UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO JOÃO DEL REI

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

Arnaldo Silva de Oliveira

Aplicação das Transformadas Z e de Laplace na produção de levedura de panificação em biorreator *"Airlift"*

Ouro Branco

2018

RESUMO

As Transformadas Z e de Laplace são técnicas matemáticas aplicadas a resolução de equações de diferenças e equações diferenciais respectivamente, os modelos matemáticos comumente utilizados para descrever o crescimento celular e o consumo de substrato em bioprocessos podem ser representados por estes tipos de equação, sendo assim, neste trabalho o processo de fermentação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* foi modelado utilizando-se os modelos cinéticos de Monod, Andrews e Verhulst e as Transformadas Z e de Laplace foram aplicadas para a resolução das equações. Solucionadas as equações, os modelos foram representados em Espaço de Estados e simulados no *Software Octave*®. Os modelos foram simulados e comparados aos dados experimentais e entre si, dentre os modelos Verhulst foi o que melhor descreveu o processo com um erro médio de 0,166 g/L para o crescimento celular e 0,346 g/L para o consumo de substrato, modelo de Andrews não é indicado para simular o processo, uma vez que esse processo não apresenta inibição pelo substrato. O grande destaque deste trabalho foi comprovar que embora quase não existam trabalhos na bibliografia que utilizem os modelos discretos e a Transformada Z para representação e resolução de modelos matemáticos na área de bioprocessos, estas ferramentas podem ser aplicadas e os resultados são satisfatórios.

Palavras chave: *Saccharomyces cerevisiae*, bioprocessos, modelagem e simulação, espaço de estados.

ABSTRACT

The Z and Laplace Transforms are mathematical techniques applied to the resolution of differential equations and differential equations respectively, since the mathematical models commonly used to describe cell growth and substrate consumption in bioprocesses can be represented by these types of equation, in this work the fermentation process of yeast Saccharomyces cerevisiae was modeled using the kinetic models of Monod, Andrews and Verhulst and the Z and Laplace Transforms were applied to solve the equations. Once the equations were solved, the models were represented in State Space and simulated in Octave® Software. The models were simulated and compared to the experimental data and between them. The Verhulst model was the one which best described the process with an medium error of 0.166 $g.L^{-1}$ for cell growth and 0.346 $g.L^{-1}$ for substrate consumption, Andrews model is not indicated to simulate the process, since this process does not presented inhibition of growth by the substrate. The main highlight of this work was to prove that although there are almost no papers in the bibliography that use the discrete models and the Z Transform for representation and resolution of mathematical models in the field of bioprocesses, these tools can be applied and the results are satisfactory.

Key words: *Saccharomyces cerevisiae*, bioprocesses, modeling and simulation, state space.

Lista de Figuras

Figura 1: Crescimento celular por brotamento..... 5

Figura 2: Variação do crescimento celular em função da quantidade inicial de açúcar no meio de cultura..... 6

Figura 3: Efeito do pH no crescimento celular de *"Saccharomyces cerevisiae"*. Condições de operação: temperatura 30º C, concentração de carboidratos variando de 15 a 35 g/L (incrementos de 5 g/L), fonte de nitrogênio variando de 1 a 5 g/L (com incrementos de 1 g/L) 7

Figura 4: Ilustração dos passos envolvidos no transporte do oxigênio de uma bolha de ar para o interior de uma célula microbiana..... 8

Figura 5: Curva de crescimento microbiano..... 9

Figura 6: Desenho esquemático do biorreator tipo tanque agitado e aerado..... 13

Figura 7: Desenho esquemático do biorreator tipo coluna de bolhas..... 14

Figura 8: Desenho esquemático do biorreator *"Airlift"* tipo *"spit-cylinder"*..... 15

Figura 9: Desenho esquemático do biorreator "*Airlift*" de cilindros concêntricos..... 15

Figura 10: Circuito RLC..... 19

Figura 11: Variação da taxa de crescimento celular em função da concentração de substrato..... 22

Figura 12: Passo a passo para execução da metodologia de trabalho..... 25

Figura 13: Dados experimentais obtidos no cultivo de *"Saccharomyces cerevisiae"* em biorreator "*Airlift*". Concentração inicial de substrato 10 g/L, 3VVm, 15 L/min 36

Figura 14: Comparação entre o modelo contínuo de Monod e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 37

Figura 15: Comparação entre o modelo discreto de Monod e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 38

Figura 16: Comparação entre o modelo não linear contínuo de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 39

Figura 17: Comparação entre o modelo linear discreto de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 40

Figura 18: Comparação entre o modelo não linear discreto de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 40

Figura 19: Comparação entre o modelo contínuo de Andrews e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 42

Figura 20: Comparação entre o modelo discreto de Andrews e os pontos experimentais obtidos em laboratório..... 42

Figura 21: Comparação entre os modelos contínuos de Monod, Verhulst e Andrews para o crescimento celular e consumo de substrato (*Saccharomyces cerevisiae* em Biorreator *Airlift*)..... 43

Figura 22: Comparação entre os modelos discretos de Monod, Verhulst (linearizado) e Andrews para o crescimento celular e consumo de substrato (*Saccharomyces cerevisiae* em Biorreator *Airlift*)..... 45

Figura 23: Comparação do modelo contínuo de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de (CERRI, FERREIRA, *et al*, 2014). Condições de operação conforme Tabela I para os experimentos 1, 2 e 3..... 48

Figura 24: Comparação do modelo discreto linear de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de (CERRI, FERREIRA, et al., 2014). Condições de operação conforme Tabela 1 para os experimentos 1, 2 e 3..... 48

Figura 25: Comparação do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de (CERRI, FERREIRA, et al., 2014). Condições de operação conforme Tabela 1 para os experimentos 1, 2 e 3..... 48

Figura 26: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 49

Figura 27: Comparação dos pontos do consumo de substrato do modelo discreto linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 49

Figura 28: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo contínuo de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 50

Figura 29: Comparação dos pontos do consumo de substrato do modelo contínuo de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 51

Figura 30: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 51

Figura 31: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3..... 52

Lista de Tabelas

Tabela 1: Condição experimental do biorreator utilizada na modelagem..... 24

Tabela 2: Composição do meio de cultura..... 25

Tabela 3: Valores encontrados para os parâmetros utilizados nos modelos..... 36

Tabela 4: Comparação dos erros dos modelos contínuos para o crescimento celular em relação aos pontos experimentais..... 44

Tabela 5: Comparação dos erros dos modelos contínuos para o consumo de substrato em relação aos pontos experimentais..... 44

Tabela 6: Comparação dos erros dos modelos discretos para o crescimento celular em relação aos pontos experimentais..... 45

Tabela 7: Comparação dos erros dos modelos discretos para o consumo de substrato em relação aos pontos experimentais..... 46

Lista de Siglas e Abreviaturas

$\dot{x} \rightarrow$	Variação da concentração celular ao longo do tempo
$\dot{S} \rightarrow$	Variação da concentração de substrato ao longo do tempo
$dx/dt \rightarrow$	Variação da concentração celular ao longo do tempo
$dS/dt \rightarrow$	Variação da concentração de substrato ao longo do tempo
$x(t) \rightarrow$	Concentração celular ao longo do tempo
$S(t) \rightarrow$	Concentração de substrato em um instante t
$\mathcal{L} \rightarrow$	Transformada de Laplace
$\alpha \rightarrow$	Constante adimensional = $1/Y_{x/S}$
$\beta \rightarrow$	Constante adimensional = $1/Y_{x/S}\, h$
$h \rightarrow$	Hora
$Z \rightarrow$	Transformada Z
$\mu \rightarrow$	Velocidade específica de crescimento celular
$\mu_{máx} \rightarrow$	Velocidade específica máxima de crescimento celular
$\mu_{monod} \rightarrow$	Velocidade específica de crescimento celular de Monod
$\mu_{andrews} \rightarrow$	Velocidade específica de crescimento celular de Andrews
$K_S \rightarrow$	Constante de saturação
$x \rightarrow$	Concentração de células
$x_{max} \rightarrow$	Concentração máxima de células
$x_0 \rightarrow$	Concentração inicial de células
$x_n \rightarrow$	Concentração de células no instante n
$x_{n+1} \rightarrow$	Concentração de células no instante n+1
$x_i \rightarrow$	Concentração de células no instante t_i
$S \rightarrow$	Concentração de substrato
$S_0 \rightarrow$	Concentração inicial de substrato
$S_n \rightarrow$	Concentração de substrato no instante n

$S_{n+1} \rightarrow$	Concentração de substrato no instante n+1
$K'_S \rightarrow$	Coeficiente de inibição pelo substrato
$V_{reator} \rightarrow$	Volume do reator
$Y_{x/S} \rightarrow$	Taxa de conversão de substrato em células
$t \rightarrow$	Instante de tempo t
$t_i \rightarrow$	Instante inicial de tempo
$\dot{m}_{acumula} \rightarrow$	Fluxo de massa acumulado no biorreator
$\dot{m}_{entra} \rightarrow$	Fluxo de massa que entra no biorreator
$\dot{m}_{sai} \rightarrow$	Fluxo de massa que sai do biorreator
$\dot{m}_{gerado} \rightarrow$	Fluxo de massa gerado pelo processo no biorreator
$\dot{m}_{consumida} \rightarrow$	Fluxo de massa consumido pelo processo no biorreator

Sumário

RESUMO.....IV

ABSTRACT V

Lista de Figuras VI

Lista de Tabelas VIII

1. Introdução.....1

2. Objetivos 3

2.1. Objetivos Específicos 3

3. Revisão Bibliográfica.....4

3.1. Leveduras.....4

3.1.1. Mecanismo de crescimento 4

3.1.1.1. Nutrientes necessários (meio de cultura).....5

3.1.1.2. Influência da temperatura e do pH 6

3.1.1.3. Influência da aeração e agitação.....7

3.1.1.4. Fases de crescimento 8

3.2. Tipos de Processos Fermentativos.....9

3.2.1. Batelada 10

3.2.2. Batelada Alimentada.....11

3.2.3. Contínuo.....11

3.3. Biorreatores 12

3.3.1. Biorreatores de Agitação Mecânica.....12

3.3.2. Biorreatores Pneumáticos.....13

3.4. Modelagem e Simulação de Processos 16

3.4.1. Modelos Contínuos.....16

3.4.2. Modelos Discretos.....17

3.4.3. Representações de Sistemas 18

3.4.4. Exemplos de Modelos Cinéticos em Bioprocessos.....21

4. Metodologia 24

4.1. Biorreator.....24

4.2. Microrganismo.....24

4.3. Meio de Cultura 24

4.4. Modelagem dos Dados 25

5. Resultados e Discussão 26

5.1. Modelos Cinéticos *26*

5.1.1. Modelo de Monod *26*

5.1.2. Modelo de Verhulst *29*

5.1.3. Modelo de Andrews *33*

5.2. Determinação dos parâmetros dos modelos 34

5.2.1. Determinação de $\mu máx$ e KS *34*

5.2.2. Determinação de α e β *35*

5.2.3. Determinação de $K'S$ *35*

5.3. Pontos experimentais do crescimento celular e do consumo de substrato 35

5.4. Valores encontrados para os parâmetros $\mu máx, KS, K'S, \alpha\ e\ \beta$ 36

5.5. Modelo de Monod 37

5.5.1. Contínuo *37*

5.5.2. Discreto *37*

5.6. Modelo de Verhulst 38

5.6.1. Contínuo não linear *39*

5.6.2. Discreto linear e não linear *39*

5.7. Modelo de Andrews 41

5.8. Comparação entre os modelos 43

5.8.1. Contínuos *43*

5.8.2. Discretos *44*

5.9. Simulação do modelo de Verhulst para outras condições de entrada 46

5.10. Gráficos de dispersão dos modelos contínuo e discretos de Verhulst 49

6. Conclusões 53

Revisão Bibliográfica 54

1. Introdução

Segundo (MCWILLIAMS, 2017) em uma reportagem da *BCC Reseach* o mercado da levedura *Saccharomyces cerevisiae* tende a apresentar um crescimento de 7,1% por ano de 2017 até 2022, passando o faturamento atual de 7,6 para 10,7 bilhões de dólares. Parte desse aumento no faturamento vem do mercado de bebidas (cervejas, vinhos, etc.) que tende a apresentar um crescimento médio de 8,3% ao ano (impulsionado pela Ásia e América Latina). O mercado de levedura de pão (fermento) tende a um crescimento de 5,7% ao ano nesse mesmo período, passando de 4,4 para 5,8 bilhões de dólares. O bioetanol, após ficar estagnado por um tempo, tem uma perspectiva de crescimento de 124 para 264 milhões de dólares, ou seja, 16,3% ao ano.

Diante desse cenário de crescimento no mercado, torna-se necessário trabalhar com processos otimizados, nesse caso, processos com elevadas produtividades. Quanto a otimização de processos, que ferramentas podem ser utilizadas para melhorar a produtividade de um processo?

Muitas técnicas podem ser utilizadas para se atingir esse objetivo, uma delas é a modelagem de processos. Essa técnica é capaz de determinar, com base em resultados experimentais, as melhores condições de operação para um processo e, consequentemente prever as melhores condições de operação quando algum parâmetro do processo mudar, o que pode ser ocasionado pelo aumento de escala por exemplo (FINLAYSON, 2006). Tudo isso aliado a um baixo investimento, o que possibilita que empresários se aventurem em novos mercados já com um conhecimento prévio do quanto o processo pode ser produtivo, dentre outras informações.

Muitos tipos de modelos podem ser aplicados para se descrever um processo: modelos lineares, modelos não lineares, modelos em redes, otimização multi-objetivos e modelos discretos. Após se obter um modelo é necessário simulá-lo, no entanto, nem sempre a resolução matemática desses modelos é trivial e, na maioria dos casos é necessária a utilização de técnicas matemáticas para solucioná-los.

Segundo (SANTOS, 2005) o método da transformada de Laplace é muito útil para se resolver equações diferenciais ordinárias. A transformada de Laplace permite converter muitas funções um pouco mais complexas, tais como senoidais e amortecidas, em equações algébricas de uma variável complexa “s”. Permite ainda converter as equações diferenciais em equações algébricas. Trata-se de uma operação semelhante a transformada logarítmica. As equações diferenciais são transformadas em equações algébricas, são realizadas as operações necessárias no domínio “s” e, em seguida são retornadas para o domínio do tempo pela transformada inversa de Laplace.

A transformada Z é amplamente utilizada para análise de sistemas em tempo discreto. Ela pode ser aplicada em equações de diferença lineares, que quando convertidas para o domínio Z se transformam em equações algébricas de solução mais fácil. Depois de solucionar a equação algébrica no domínio Z aplica-se a transformada Z inversa, obtendo-se assim a resposta final do sistema (ARTUZI JR. e CRUZ, 2010). Pode-se dizer que a transformada Z representa exatamente a função da transformada de Laplace, contudo para sistemas discretos.

Embora muitos estudos já tenham sido feitos na área de modelagem de bioprocessos, não foi encontrado nenhum trabalho na literatura que tenha aplicado as transformadas Z e de Laplace para construção de modelos discretos e contínuos que descrevam o crescimento celular e consumo de substrato durante o cultivo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em biorreator *Airlift*, o que torna o estudo inédito. Deste modo, este trabalho tem como objetivo aplicar diferentes modelos cinéticos encontrados na literatura, além das transformadas Z e de Laplace no processo de fermentação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* e assim comparar os resultados.

2. Objetivos

Aplicar as Transformadas Z e Laplace na modelagem do processo fermentativo da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em experimentos realizados no biorreator *Airlift* e comparar os resultados aos pontos experimentais e entre si.

2.1. Objetivos Específicos

- Fazer o balanço de massas no reator e obter os modelos de Monod, Verhulst e Andrews;
- Aplicar a Transformada Z e a Transformada de Laplace e obter os modelos contínuos e discretos para Monod, Verhulst e Andrews;
- Obter as equações em Espaço de Estados para a biomassa $(x(t)\ ou\ x_{n+1})$ e substrato $(S(t)\ ou\ S_{n+1})$;
- Comparar os resultados experimentais com os modelos discretos e contínuos (Monod, Verhulst e Andrews).
- Realizar novas simulações alterando parâmetros e comparar com outras condições experimentais.

3. Revisão Bibliográfica

A seguir será apresentada uma breve revisão bibliográfica sobre leveduras, fases de crescimento celular, tipo de processos fermentativos, biorreatores, modelagem matemática, transformadas Z e de Laplace.

3.1. Leveduras

Conceitualmente leveduras são organismos unicelulares microscópicos compostos por uma parede celular, membrana plasmática, mitocôndrias, ribossomos, complexo de Golgi, vacúolo, retículo endoplasmático e núcleo (FELDMANN, 2012). A principal característica das leveduras é a sua capacidade de converter açúcares em etanol, seu meio de reprodução pode ser por brotamento, fissão ou ainda crescimento de filamentos irregulares (SCHNEITER, 2004).

Desde a antiguidade as leveduras, mais precisamente a *Saccharomyces cerevisiae,* vem sendo utilizada em processos fermentativos diversos, como panificação, cervejaria e fabricação de vinho (NEVES, 2003). Apesar disso, somente em meados do século dezenove a fermentação pode ser relacionada com o metabolismo das leveduras (FELDMANN, 2012).

As leveduras desempenham o papel principal em diversos processos da indústria alimentícia e de produção de bioetanol. A levedura mais utilizada é a *Saccharomyces cerevisiae*, outras leveduras, conhecidas como leveduras não convencionais, tais como *Scheffersomyces stipitis, Yarrowia lipolytica, Kluyveromyces lactis* e a *Dekkera bruxellensis,* também já são utilizadas em alguns processos (STEENSELS *et al*., 2014 e WILLAERT, 2017). Recentemente estão surgindo muitos estudos buscando a aplicação de leveduras alternativas para o processo de panificação, contudo a *Saccharomyces cerevisiae* ainda permanece dominante no mercado.

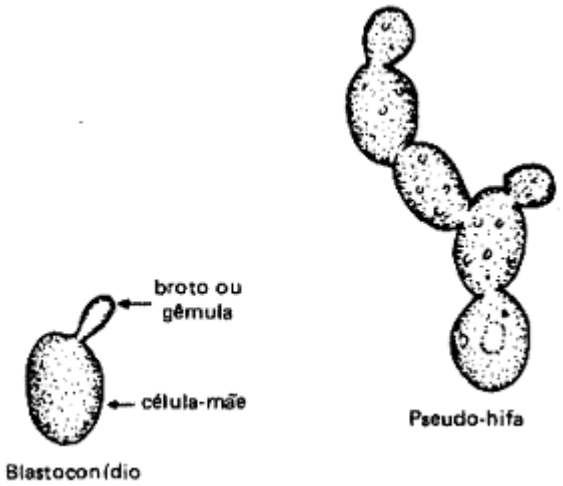
3.1.1. Mecanismo de crescimento

A principal forma de multiplicação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* é por brotamento, neste tipo de reprodução a nova célula é iniciada como um crescimento externo da célula mãe, divisão do núcleo, formação da parede celular e por fim, separação das células (SCHNEITER, 2004). O processo é ilustrado pela Figura 1.

As leveduras podem metabolizar glicose de duas formas diferentes, por oxidação ou fermentação, o mecanismo de oxidação proporciona o crescimento celular ao passo que a fermentação proporciona a formação de etanol. O metabolismo das leveduras é influenciado pelas concentrações de oxigênio de glicose, por exemplo, uma alta concentração e glicose e uma baixa concentração de oxigênio pode resultar no efeito *Crabtree*, que inibe o crescimento celular e favorece a formação de etanol (JI *et al*., 2016). A levedura *Saccharomyces cerevisiae*

apresenta crescimento celular com altas e baixas concentrações de oxigênio (BERRY e BROWN, 1987 e COSTA *et al*. 2018), sendo este um dos motivos que a torna tão utilizada.

Figura 1: Crescimento celular por brotamento.



Fonte: Adaptado de (SCHNEITER, 2004).

Os seguintes fatores também influenciam no crescimento celular da *Saccharomyces cerevisiae*: composição do meio de cultura (fonte de carbono e nitrogênio), temperatura, o pH, agitação e a aeração, nos próximos tópicos vamos detalhar um pouco a importância de cada um desses fatores.

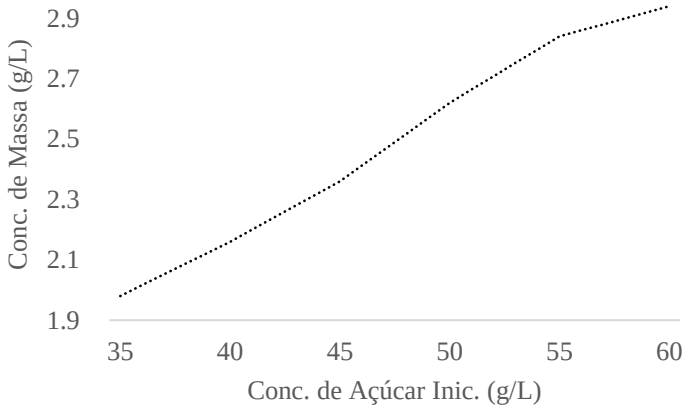
3.1.1.1. Nutrientes necessários (meio de cultura)

Segundo (SCHIMIDELL, LIMA, *et al.*, 1983) um meio de cultura deve possuir as seguintes características gerais: ser o mais barato possível, atender as necessidades nutricionais do microrganismo, auxiliar no controle do processo, evitar uma excessiva formação de espuma, não provocar problemas na recuperação do produto, permitir um certo tempo de armazenagem, ter uma composição razoavelmente fixa e não causar dificuldades no tratamento do efluente.

Os meios podem ser classificados como naturais ou sintéticos. Os meios naturais são tecidos ou sumo de plantas ou animais em seu estado nativo (usados em processos industriais), enquanto que os meios sintéticos são preparados com açúcar puro e compostos orgânicos e inorgânicos quimicamente puros (utilizados em laboratórios). Nos meios sintéticos, a composição química é qualitativa e quantitativamente bem definida. A levedura *Saccharomyces cerevisiae* utiliza preferencialmente a glicose a qualquer outro tipo de açúcar (NEVES, 2003).

A Figura 2 mostra o efeito da concentração inicial de açúcar no crescimento celular. A concentração de açúcar variou de 35 a 60 (g/L).

Figura 2: Variação do crescimento celular em função da quantidade inicial de açúcar do meio de cultura.



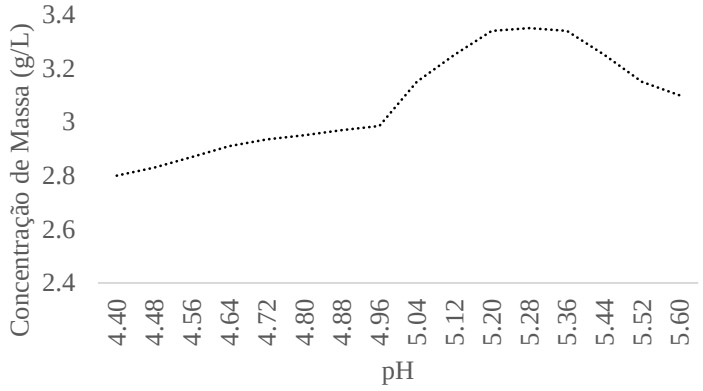
Fonte: Adaptado de (HODA, GHASEN, *et al.*, 2010).

Carbono e nitrogênio, presentes no meio de cultura, são fontes importantes de energia para as células da *Saccharomyces cerevisiae*, a disponibilidade e concentração do nitrogênio também pode ser associada a biossíntese de etanol, existem estudos que relacionam esse efeito (MARIN, 2018).

3.1.1.2. Influência da temperatura e do pH

Conforme mostrado no trabalho de LU *at al*., 2017, variações na temperatura e no pH impactam a produção de etanol do processo de fermentação da levedura *Saccharomyces cerevisiae*. Uma diminuição no pH gera queda na formação de produto, ao passo que o inverso ocorre com a temperatura, quanto maior a temperatura menor a quantidade de produto formado (foram comparadas as temperaturas de 20ºC e 30ºC e pH de 3,1 e 3,9). As que variações no pH causaram alterações mais significantes na formação de produto quando comparadas as variações da temperatura para as condições estudadas. Pela Figura 3, pode-se observar o efeito de variações do pH no crescimento celular.

Figura 3: Efeito do pH no crescimento celular de *Saccharomyces cerevisiae*. Condições de operação: temperatura 30ºC, concentração de carboidratos variando de 15 a 35 g/L (incrementos de 5 g/L), fonte de nitrogênio variando de 1 a 5 g/L (com incrementos de 1 g/L).



Fonte: Adaptado de (HODA, GHASEN, *et al.*, 2010).

Temperaturas elevadas causam inibição do crescimento celular e na formação de produto pela levedura *Saccharomyces cerevisiae*, porém, conforme mostrado por LI *at al.*, 2017 a adição dos fatores Hsf1 e Msn2 do termotolerante *Kluyveromyces marxianus* permite o crescimento celular e a formação de produto até temperaturas de 43ºC.

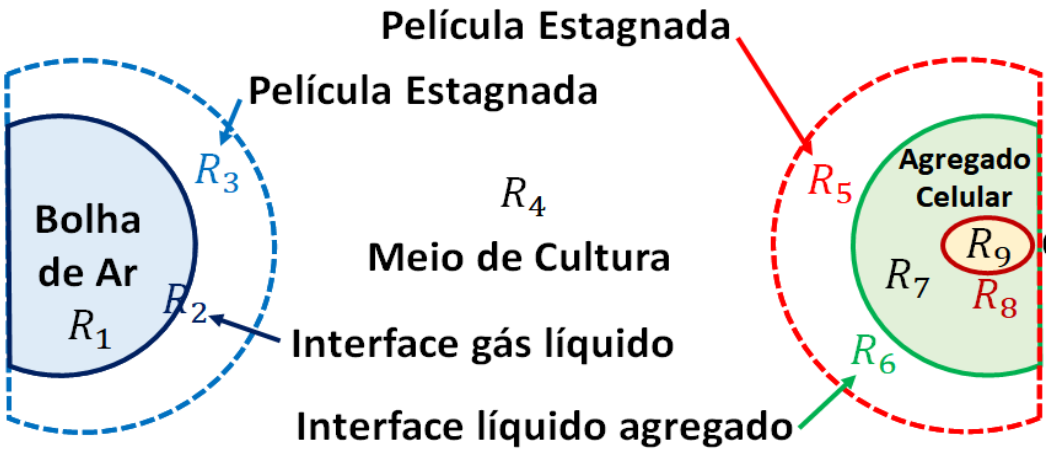
3.1.1.3. Influência da aeração e agitação

O principal objetivo da agitação em um biorreator é manter a mistura homogeneizada dentro do reator. De forma geral a agitação fornece movimentação ao líquido no auxílio ao processamento físico, químico e a taxa de transporte (SILVA, 2008), contudo não resolve o problema da limitação de O_2, o que causa aumento nos custos do processo. A limitação de oxigênio afeta diretamente o crescimento celular da maioria das leveduras (COSTA, 2018). O mecanismo de transporte do oxigênio desde a bolha de ar até a célula é longo, sendo afetado por uma série de resistências, conforme mostrado na Figura 4.

Quando é proporcionada uma aeração ideal no reator consegue-se minimizar a resistência ao transporte do oxigênio através do meio de cultura (SCHIMIDELL, LIMA, *et al.*, 1983).

Conforme mencionado por COSTA, 2018, ainda não se sabe como a presença do oxigênio afeta o crescimento celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, que apresenta taxas de crescimento celular similares mesmo com baixas quantidades de oxigênio presente no meio.

Figura 4: Ilustração dos passos envolvidos no transporte do oxigênio de uma bolha de ar para o interior de uma célula microbiana.



Fonte: Adaptado de (SCHIMIDELL, LIMA, *et al.*, 1983).

3.1.1.4. Fases de crescimento

As leveduras apresentam seis fases principais de crescimento: fase *lag*, fase de aceleração, fase log, fase de desaceleração, fase estacionária e fase de declínio (OLIVEIRA, 2013).

A fase *lag* é iniciada a partir do momento em que uma levedura (inóculo) é introduzida em um novo meio (meio de cultura), a exposição do inóculo a um novo meio enriquecido irá causar uma resposta imediata através de várias mudanças bioquímicas. As mudanças que acontecem durante a fase *lag* são caracterizadas por uma mudança total na síntese de proteínas (BREDJING e JESPERSEN, 2002). Esta fase pode ter sua duração reduzida utilizando-se uma grande quantidade de inóculo ou pelo uso de um inóculo que já está na fase de crescimento exponencial em condições similares. Quando o meio está próximo da temperatura ideal de cultivo e possui os nutrientes corretos também contribui para a diminuição do tempo da fase *lag* (TUITE, 1991).

Na fase de aceleração ocorre o aumento gradual da velocidade de multiplicação celular (OLIVEIRA, 2013). A fase de aceleração é uma transição entre a fase *lag* e a fase *log* (fase de crescimento exponencial.

Na fase exponencial ou fase *log* ocorre o aumento exponencial do número de células (cada célula se divide a intervalos constantes de tempo), esta fase se caracteriza pelo intenso metabolismo celular e grande quantidade de produtos de excreção, a duração desta fase é controlada pela composição e estado físico do meio, número de células por unidade de volume,

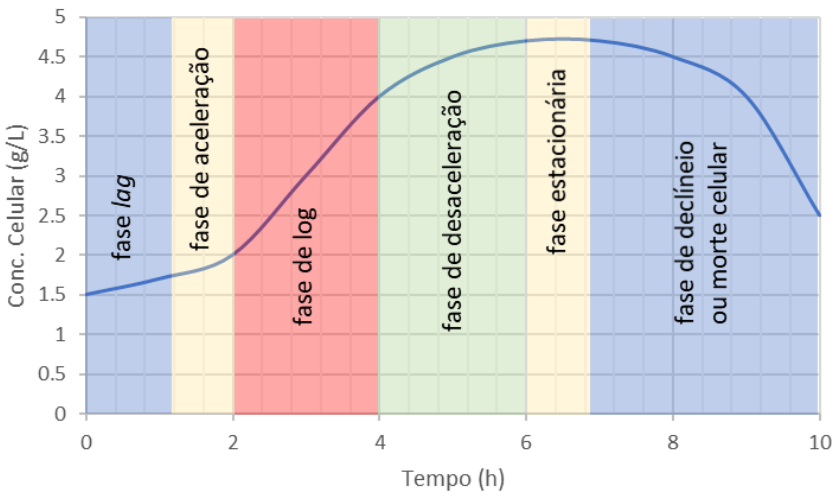
acúmulo de metabólicos e produtos finais (inibidores) (OLIVEIRA, 2013). Durante esta fase a taxa de crescimento específico é constante e máxima (TUITE, 1991). A medida que as fontes de alimento da levedura começam a se esgotar, a taxa de crescimento começa a diminuir gradativamente, embora ainda ocorra o crescimento celular ele acontece mais lentamente a medida que o tempo passa, essa fase é conhecida como fase de desaceleração do crescimento.

A fase estacionária se inicia ao final da fase de desaceleração do crescimento, o número de células permanece quase que constante por um período, ela é caracterizada pelo baixo consumo de energia. Esta fase é influenciada pelo esgotamento de nutrientes do meio de cultura e acúmulo de produtos tóxicos (LOPES, 2017).

Durante a fase de declínio o número de células que morre excede o número de células novas devido a composição do meio (esgotamento do meio, acúmulo de produtos, etc.) e condições físicas e químicas do meio (pH, temperatura, etc.).

Pela Figura 5, pode-se observar a curva característica do crescimento microbiano.

Figura 5: Curva de crescimento microbiano.



Fonte: Adaptado de (OLIVEIRA, 2013).

3.2. Tipos de Processos Fermentativos

As fermentações podem ser realizadas por três tipos principais de processos: processos em batelada, processos em batelada alimentada e processos contínuos. Os processos em batelada são aplicados principalmente na produção de antibióticos, visto que estes organismos são altamente mutantes, transformando-se em organismos de maior crescimento e menor eficiência

quanto cultivados por processos contínuos. Na produção de levedura de pão o processo mais utilizado é a batelada alimentada, uma vez que a alimentação contínua de substrato previne a inibição ou a repressão do crescimento celular. Os processos contínuos são comumente aplicados somente na produção de biomassa para alimentação e tratamento de efluentes (KENT, 1992).

Segundo CROUGHAN *et al*. 2015 durante a década de 90 as indústrias utilizavam poucos biorretatores de grandes capacidades volumétricas por processo, o que proporcionava um grande volume de produção em intervalos relativamente longos de tempo. Hoje em dia a indústria trabalha com biorreatores com capacidades volumétricas menores, porém em maiores quantidades, o que diminui o intervalo de tempo para obtenção do produto. Seguindo esta lógica, no futuro os processos tendem a migrar para o modelo contínuo, gerando produtos em um intervalo contínuo de tempo. Contudo, assim como outros setores mais maduros da indústria, metalúrgicas, petróleo, etc. essa transição demanda tempo, maior conhecimento dos processos e demanda de mercado.

3.2.1. Batelada

O processo em batelada consiste em colocar o inóculo e o meio de cultura no início do processo, somente após a completa fermentação os produtos desejados são retirados do fermentador, durante o processo somente ar e ácidos/bases para controle do pH são adicionados ao biorretator. Após o término do processo o biorreator e limpo, esterilizado e inicia-se uma nova batelada. Este processo ainda é o mais aplicado nos bioprocessos, isso se deve ao fato ser mais fácil evitar contaminações, já que o biorreator opera fechado, sem entrada de novos materiais (CINAR *et. al.*, 2003).

O processo em batelada é cíclico com resultados repetíveis. O processo gera uma quantidade finita de produto, diferenciando assim de um processo contínuo. Normalmente um processo em batelada possui os seguintes parâmetros (MARQUES, 2009): informações sobre a matéria prima e ingredientes utilizados (quantidades, etc.), procedimento passo-a-passo, condições do processo e equipamentos utilizados.

Baseado nessas informações, para baixas produções, os processos em reatores batelada terão um custo de investimento menor do que os reatores contínuos, sendo também indicados para testar novos produtos. As necessidades de construção e instrumentação também são mais baratas e simples para esses reatores, além disso os processos em batelada são menos susceptíveis a contaminações.

É necessária mais mão de obra para manipulação de materiais envolvidos no sistema e o processo proporciona uma baixa produtividade.

3.2.2. Batelada Alimentada

No processo em batelada alimentada o substrato é adicionado esporadicamente ou continuamente durante a fermentação, somente ao final da fermentação os produtos são retirados podendo-se ainda manter uma quantidade de células para servir de inóculo para uma próxima batelada. Os processos em batelada alimentada são indicados para a grande maioria dos processos fermentativos, especialmente quando o foco é a produção de biomassa (crescimento). Nesses processos, em especial os com alta densidade celular a produtividade é alta devido ao grande número de células viáveis no meio em fermentação. A batelada alimentada permite o controle da concentração de açúcar, minimizando o *Efeito crabtree* e permitindo sua adição em momentos adequados da fermentação, aumentando assim a duração da fase de crescimento exponencial (LIM, 2013).

Os processos em batelada alimentada se dividem em dois tipos básicos: o de volume fixo e o de volume variável. No processo em volume fixo o substrato é alimentado sem que haja diluição do meio de cultura (o volume pode ser mantido constante pela alimentação do substrato na forma de líquido concentrado ou por diálise). Nos sistemas com volume variável, o volume se altera de acordo com o tempo propício para o substrato alimentado. A alimentação do substrato pode ser feita a vazão constante, vazão crescente, decrescente, entre outros (NEVES, 2003).

Logo, este processo permite o controle do substrato, obtenção de elevadas concentrações de metabólitos, aumento da produtividade em células e em produto e emprego de sistemas de controle avançados com maior facilidade. Porém, torna-se difícil manter a assepsia para longos períodos e existe a possibilidade de mutação dos microrganismos e dificuldade de se manter o reator homogêneo.

3.2.3. Contínuo

O processo contínuo é caracterizado por possuir uma alimentação constante de substrato de forma que o volume no reator seja mantido constante pela retirada contínua do caldo de fermentação (produto), ou seja, as unidades de operação industrial são integradas em um fluxo único (MIOTO, 2017).

A melhoria no controle dos processos vem trazendo à tona a discussão sobre a implementação de processos contínuos, que possibilitam o uso de equipamentos menores,

redução de mão de obra e consequentemente um menor custo operacional. Apesar disso, muito ainda precisa ser melhorado no controle dos processos para que esse tipo de processo venha a ser o mais utilizado na indústria. Ao contrário dos processos em batelada, onde um parâmetro pode ser ajustado de uma etapa para outra do processo, em um processo contínuo um erro ou uma contaminação podem ser catastróficos para a linha de produção (CATHERINE, 2017).

3.3. Biorreatores

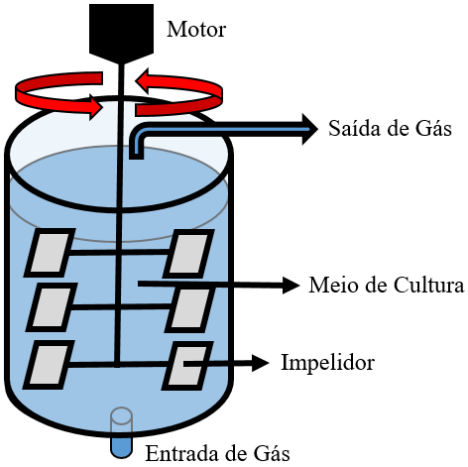
Biorreatores são os equipamentos utilizados para converter matérias primas em produto utilizando microrganismos, células animais, vegetais ou enzimas. Os microrganismos precisam de condições ideais para crescimento e para formar produto, um biorreator mantém essas condições ideais (temperatura, pH, substratos e oxigênio), o que possibilita o crescimento do microrganismo e formação do produto de interesse A transferência do oxigênio é um dos fatores mais críticos na operação de um biorreator em processos aeróbicos, isso se deve a baixa solubilidade do oxigênio no meio de cultura, fazendo com que esse seja o fator limitante do processo (CERRI, 2009).

Segundo FARINAS em GUPTA, 2016 os biorreatores podem ser divididos em dois tipos principais, os biorreatores convencionais tipo tanque agitado e aerado de agitação mecânica e os biorreatores pneumáticos (coluna de bolhas e *Airlift*), a aplicação de cada tipo de biorreator está diretamente ligada do tipo de microrganismo cultivado.

3.3.1. Biorreatores de Agitação Mecânica

Conhecido como reator convencional. A agitação é promovida por impelidores conectados a um eixo giratório e a aeração é feita pela parte inferior do equipamento. A busca pela otimização das condições dos reatores levou ao desenvolvimento de novos tipos de impelidores, o mais utilizado é o tipo turbina de seis pás planas, com aspersor de gás localizado bem abaixo do impelidor (CERRI, 2009). Dentre as diferenças, vantagens e desvantagens dos biorreatores de agitação mecânica, quando comparados aos biorreatores pneumáticos, pode-se mencionar que o custo para aeração desses reatores é superior, trazendo viabilidade econômica para produção de *Penicillium chrysogenum* por exemplo, apenas para tanques com volumes superiores a 1000 L, conforme mostrado no trabalho de HUMBIRD, 2017. Além disto, conforme mostrado por LAMOTTE *et. al.*, 2017 através de experimentos realizados com reator do tipo tanque agitado, com aeração feita pela superfície, a dissolução do oxigênio não é uniforme neste tipo de reator, existe um gradiente vertical da solubilidade dos gases no meio. A Figura 6 apresenta o desenho esquemático do biorreator tipo tanque agitado e aerado.

Figura 6: Desenho esquemático do biorreator tipo tanque agitado e aerado.



Fonte: Adaptado de (CERRI, 2009).

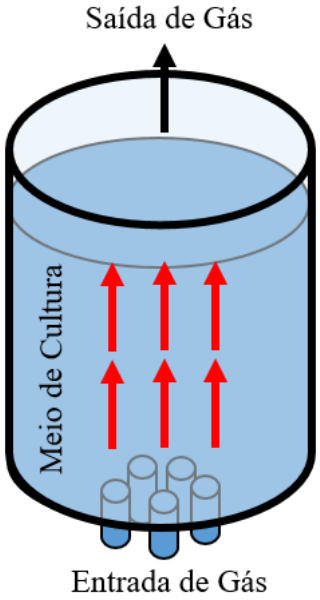
3.3.2. Biorreatores Pneumáticos

Nos biorreatores pneumáticos a agitação e a aeração são realizadas apenas pela injeção de gás. Eles vêm ganhando espaço na indústria da biotecnologia devido a suas altas transferências de oxigênio, menor consumo de energia, facilidade de construção e aumento de escala desse tipo de equipamento, quando comparado aos modelos convencionais de tanque agitado e aerado. Os tipos principais de biorreatores pneumáticos são os tipos coluna de bolhas e *Airlift* (CERRI, 2009). A principal diferença entre os biorreatores coluna de bolhas e *Airlift* é que no biorreator de coluna de bolhas a movimentação e aeração dos fluidos é causada apenas pela injeção de gás na base do reator, ao passo que nos biorreatores *Airlift* existem estruturas internas que promovem a circulação e melhor homogeneização dos fluidos no interior do reator.

Dentre as vantagens no uso de biorreatores pneumáticos podemos mencionar o baixo custo de manutenção, devido a inexistência de partes móveis e o baixo consumo de energia, por outro lado o uso de fluidos não newtonianos limita o uso dos biorreatores pneumáticos uma vez que a viscosidade dificulta a homogeneização do meio e a transferência de oxigênio (JESUS *et al.*, 2017).

No biorreator coluna de bolhas a aeração do meio e a homogeneização é feita pela injeção de ar no fundo do reator. A Figura 7 ilustra o desenho esquemático deste tipo de biorreator.

Figura 7: Desenho esquemático do biorreator tipo coluna de bolhas.



Fonte: Adaptado de (CERRI, 2009).

Os biorreatores *Airlift* são compostos por duas regiões: uma região com injeção de gás, denominada região de subida (*riser*) e uma região de descida (*downcomer*) por onde o meio reacional retorna. Essas duas regiões estão interligadas no topo e na base do biorreator. A diferença entre as retenções gasosas das duas regiões causa uma diferença entre as densidades, o que resulta na circulação do fluido com escoamento ascendente na região de subida e descendente na região de descida (CHISTI e MOO-YOUNG, 1988).

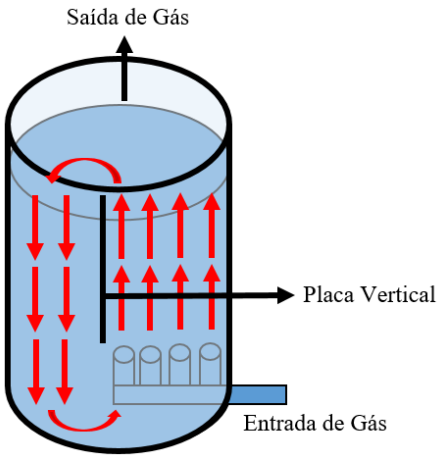
Durante o funcionamento desse biorreator, o meio de cultura é movido de baixo para cima impulsionado pelas bolhas injetadas no fundo do reator e retorna de cima para baixo por uma região distinta da região de elevação. O formato geométrico das estruturas internas (cilindros) dos biorreatores *Airlift* influenciam na aeração do processo, conforme estudo realizado por ESPERANÇA, et. al. em 2017 que comparou dois tipos de biorreatores com cilindro interno retangular.

Os biorreatores *Airlift* podem ainda ser divididos em: *Airlift* tipo *split-cylinder* e o *Airlift* de cilindros concêntricos (CERRI, 2009).

Nos biorreatores *split-cylinder* as regiões de subida (*riser*) e descida (*downcomer*) são separadas por uma placa vertical, o ar é aspergido apenas por uma das regiões, que é definida

como “região de subida”. Pela Figura 8 podemos observar o desenho esquemático desse tipo de biorreator.

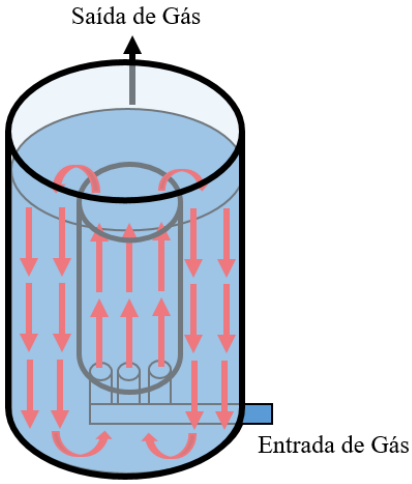
Figura 8: Desenho esquemático do biorreator *“Airlift”* tipo *"spit-cylinder"*.



Fonte: Adaptado de (CERRI, 2009).

Nos biorreatores de cilindros concêntricos tem-se uma região central de subida (*riser*) e uma região de descida (*downcomer*) próxima das extremidades do reator. A Figura 9 ilustra um desenho esquemático do biorreator *Airlift* de cilindros concêntricos.

Figura 9: Desenho esquemático do biorreator *“Airlift”* de cilindros concêntricos.



Fonte: Adaptado de (CERRI, 2009).

3.4. Modelagem e Simulação de Processos

A modelagem de processos pode ser utilizada para determinar o tamanho de um equipamento em uma planta, a quantidade necessária de energia para o processo, a proporção ideal das matérias primas para reduzir o custo, etc. (FINLAYSON, 2006). Embora a modelagem proporcione todos estes benefícios a aprendizagem e a operação de processos pequena parte da indústria utiliza esta ferramenta (RYAN e HEAVEY, 2006).

Existem dois tipos básicos de modelagem matemática, isto é, a modelagem caixa branca (modelagem pela física ou natureza do processo) e a modelagem caixa preta (modelagem empírica). No caso da modelagem caixa branca é necessário que se conheça a fundo o processo a ser modelado e conhecer bem as equações matemáticas que descrevem os fenômenos envolvidos. A identificação de sistemas é utilizada para fazer as modelagens em caixa preta, onde não é necessário conhecimento prévio do sistema a ser estudado (AGUIRRE, 2015).

Os termos discreto e contínuo referem-se ao tempo. Equações diferenciais descrevem modelos dinâmicos contínuos e representam a evolução contínua de um sistema no tempo. Já os modelos dinâmicos discretos são representados por equações de diferenças (AGUIRRE, 2015). HALL, 1986 já havia concluído que os modelos contínuos se adequam melhor a alguns tipos de processo, ao passo que os modelos discretos a outros, sendo assim eles não competem entre si, se complementam.

3.4.1. Modelos Contínuos

A simulação dos modelos contínuos envolve a resolução de equações diferenciais do tipo $\dot{x} = f(x, t)$. Para resolver estas equações utiliza-se a Transformada de Laplace, que permite que se encontre a solução de uma equação diferencial ordinária de coeficientes constantes pela solução de uma equação algébrica (IME UERJ, 2014).

A transformada de Laplace da função $f(t)$ é definida por:

$$F(s) = \mathcal{L}\{f(t)\} = \int_0^\infty e^{-st} f(t)dt \tag{1}$$

se a integral imprópria converge, pelo menos para algum valor de s.

Como a transformada de Laplace envolve integração, é natural que ela tenha algumas das propriedades da integral. A linearidade é uma dessas propriedades. Sejam f e g duas funções cujas transformadas de Laplace existem para $s > a_1$ e $s > a_2$, respectivamente. Então para $s > \max(a_1, a_2)$, então:

$$\mathcal{L}\{\alpha f(t) + \beta g(t)\} = \int_0^\infty e^{-st}(\alpha f(t) + \beta g(t))\, dt \tag{2}$$

$$\mathcal{L}\{\alpha f(t) + \beta g(t)\} = \alpha \int_0^\infty e^{-st} f(t)\, dt + \beta \int_0^\infty e^{-st} g(t)\, dt \tag{3}$$

$$\mathcal{L}\{\alpha f(t) + \beta g(t)\} = \alpha \mathcal{L}\{f(t)\} + \beta \mathcal{L}\{g(t)\}, para\ todo\ \alpha, \beta \in \mathbb{R} \tag{4}$$

3.4.2. Modelos Discretos

A simulação de modelos discretos normalmente corresponde a solução de equações de diferença, neste caso, o procedimento não requer nenhum algoritmo especial, como no caso de sistemas contínuos. Considere, a seguir um exemplo (AGUIRRE, 2015).

$$y(k) = 1{,}7649y(k-1) - 0{,}2827y(k-2) + 0{,}8661u(k-3) - 0{,}73578u(k-1) + 0{,}07513u(k-2) + \xi(k), \tag{5}$$

Sendo que tanto $y(k)$ como $u(k)$ são dados em volts. A tensão na saída do conversor é $y(k)$, $u(k)$ é a tensão contínua usada para definir a razão cíclica do conversor e $\xi(k)$ é o erro cometido pelo modelo ao tentar explicar $y(k)$. Vamos considerar as seguintes condições iniciais: $y(1) = y(2) = 14V$ e $u(0) = u(1) = 2{,}3V, u(2) = u(3) = 2{,}4V$, a simulação do modelo resulta em:

$$y(3) = 1{,}7649y(14) - 0{,}2827y(14) + 0{,}8661u(2{,}3) - 0{,}73578u(2{,}4) + 0{,}07513u(2{,}3) = 13{,}8698 \tag{6}$$

$$y(4) = 1{,}7649y(13{,}8698) - 0{,}2827y(14) + 0{,}8661u(2{,}3) - 0{,}73578u(2{,}4) + 0{,}07513u(2{,}4) = 13{,}6474 \tag{7}$$

$$y(5) = 1{,}7649y(13{,}6474) - 0{,}2827y(13{,}8698) + 0{,}8661u(2{,}4) - 0{,}73578u(2{,}3) + 0{,}07513u(2{,}4) = 13{,}5197 \tag{8}$$

$$y(6) = 1{,}7649y(13{,}5197) - 0{,}2827y(13{,}6474) + 0{,}8661u(2{,}4) - 0{,}73578u(2{,}4) + 0{,}07513u(2{,}3) = 13{,}3917 \tag{9}$$

$$y(7) = 1{,}7649y(13{,}3717) - 0{,}2827y(13{,}5197) + 0{,}8661u(2{,}3) - 0{,}73578u(2{,}4) + 0{,}07513u(2{,}3) = 13{,}1817 \tag{10}$$

e assim sucessivamente...

A transformada Z permite transformar sinais no domínio do tempo discreto para o domínio Z, é utilizada em sinais discretos da mesma forma que a transformada de Laplace é utilizada para tempo contínuo. O sinal em tempo discreto, obtido a partir de um contínuo, pode ser

apresentado com uma sequência de impulsos de amplitudes iguais a do sinal contínuo nos tempos de amostragem. O sinal resultante é definido por (CUNHA e MACHADO):

$$u^*(t) = \sum_{k=0}^{\infty} u(k)\delta(t-kh) = u(0)\delta(t) + u(h)\delta(t-h) + u(2h)\delta(t-2h) + \cdots \quad (11)$$

aplicando a transformada de Laplace ao sinal amostrado e fazendo a mudança de variável $z = e^{hs}$, vem:

$$Z\{u(t)\} = U(z) = \sum_{k=0}^{\infty} u(kh)\, z^{-h} = u(0) + u(h)z^{-1} + u(2h)z^{-2} + \cdots \quad (12)$$

a transformada Z inversa permite obter $x(k)$ de $x(z)$.

3.4.3. Representações de Sistemas

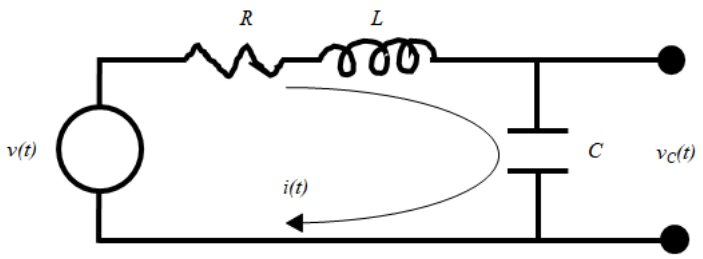
Um modelo matemático de um sistema é um análogo de tal sistema. Um sistema nada mais é do que uma relação dinâmica entre variáveis. Existem muitas formas de se representar um mesmo modelo matemático, contudo uma representação pode se aplicar melhor a um sistema do que a outro (NIDMEIJER, 1989). Representação é a forma que o modelo matemático é expresso. Podemos mencionar entre as várias representações de modelos existentes, dois tipos principais, que são os mais utilizados, as funções de transferência e o espaço de estados. Essas duas representações podem ser utilizadas tanto para intervalos de tempo contínuos, quanto para intervalos de tempo discretos (AGUIRRE, 2015).

Por definição, a função de transferência de um sistema é a transformada de Laplace (intervalos contínuos) da sua resposta ao impulso. A função de transferência descreve o comportamento dinâmico de uma entrada e uma saída, ou seja, descreve como uma determinada entrada modifica a uma determinada saída de um sistema. Para sinais de entrada com espectro de frequência suficientemente amplo, uma estimativa da função de transferência de um sistema pode ser obtida dividindo-se a transformada de saída da saída pela transformada da entrada para condições iniciais nulas. Logo, as funções de transferência são geralmente a divisão de dois polinômios em s (domínio de Laplace) (AGUIRRE, 2015).

A obtenção da função de transferência é um problema típico da análise de sistemas lineares. Quando a equação diferencial (no caso de tempo contínuo) que descreve o sistema é conhecida, a função de transferência é obtida tomando-se a transformada de Laplace com condições iniciais

nulas. A equação diferencial pode ser obtida considerando as leis que descrevem os fenômenos envolvidos (AGUIRRE, 2015). Considere o seguinte sistema (Figura 10), circuito RLC:

Figura 10: Circuito RLC.



Fonte: Adaptado de (AGUIRRE, 2015).

As equações diferenciais que representam o sistema são:

$$L\frac{di(t)}{dt} + Ri(t) + v_c(t) = v(t), \tag{13}$$

$$C\frac{dv_c(t)}{dt} = i(t). \tag{14}$$

para se obter a função de transferência aplica-se a transformada de Laplace nas equações diferenciais que descrevem o sistema, se fosse um sistema discreto, deveria se aplicar a transformada Z.

Aplicando Laplace na Equação 13 obtemos:

$$sLi(s) + Ri(s) + v_c(s) = v(s), \tag{15}$$

analogamente para a Equação 14 obtemos:

$$sCv_c(s) = i(s) \rightarrow v_c(s) = \frac{i(s)}{sC}. \tag{16}$$

Aplicando a Equação 16 na Equação 15, temos:

$$sLi(s) + Ri(s) + \frac{i(s)}{sC} = v(s),$$

$$\left(sL + R + \frac{1}{sC}\right) i(s) = v(s),$$

$$(s^2CL + sCR + 1)i(s) = sCv(s),$$

$$\frac{i(s)}{v(s)} = \frac{Cs}{CLs^2 + CRs + 1}. \tag{17}$$

que é a função de transferência para o sistema modelado nas Equações 13 e 14.

A função de transferência também pode ser obtida diretamente a partir de dados produzidos pelo sistema, usando-se os métodos de identificação de sistemas (AGUIRRE, 2015).

Pelo fato da função de transferência descrever a dinâmica causa e efeito apenas de uma entrada e uma saída, ela não oferece informação detalhada do que acontece dentro do sistema entre o ponto de entrada e o ponto de saída.

A representação em Espaço de Estados é capaz de descrever a relação entre várias variáveis (entradas e saídas), esta representação nada mais é do que uma forma diferente de se escrever as várias equações que relacionam um sistema, o grande diferencial quando comparada a função de transferência, por exemplo, é que ela possibilita estabelecer estratégias gerais de controle (JACOB e ZWART, 2012). Esse tipo de representação descreve o sistema no domínio do tempo e é mais conveniente para representar sistemas não lineares e multivariáveis do que a função ou matriz de transferência (AGUIRRE, 2015). Um modelo linear típico em espaço de estados tem a seguinte forma:

$$\dot{x} = Ax + Bu \tag{18}$$

$$y = Cx + Du, \tag{19}$$

sendo que $x \in \mathbb{R}^n$ é o vetor do estado n-dimensional, o ponto indica a derivada temporal, ou seja, $\dot{x} = dx/dt$; $u(t) \in \mathbb{R}^n$ é o vetor de entradas formado por r funções temporais; $y(t) \in \mathbb{R}^m$ é o vetor m-dimensional de saídas medidas e $A, B, C\ e\ D$ são matrizes constantes. O modelo será multivariável se $r > 1$ e/ou $m > 1$. Caso haja apenas uma entrada $r = 1$ e uma saída $m = 1$, o modelo é monovariável (AGUIRRE, 2015).

Duas informações importantes: o conhecimento do vetor de estado em qualquer instante t_0 especifica o estado ou condição do sistema nesse instante e a representação de espaço de estados não é única, pode-se representar o mesmo sistema com modelos diferentes no espaço de estados.

Para visualizar a representação em espaço de estados o circuito RLC da Figura 8 foi refeito com essa representação.

Primeiramente vamos reescrever as Equações 13 e 14 como:

$$\frac{di(t)}{dt} = \frac{1}{L}\left(-Ri(t) - v_c(t) + v(t)\right) \tag{20}$$

$$\frac{dv_c(t)}{dt} = \frac{1}{C}i(t), \tag{21}$$

podemos representar na forma matricial, conforme a seguir:

$$\dot{x} = Ax + Bu$$

$$\begin{bmatrix} \dot{i(t)} \\ \dot{v_C}(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} -\frac{R}{L} & -\frac{1}{L} \\ \frac{1}{C} & 0 \end{bmatrix} * \begin{bmatrix} i(t) \\ v_C(t) \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \frac{1}{L} \\ 0 \end{bmatrix} v(t) \tag{22}$$

$$y = Cx.$$

$$\begin{bmatrix} y_1(t) \\ y_2(t) \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix} * \begin{bmatrix} i(t) \\ v_C(t) \end{bmatrix} \tag{23}$$

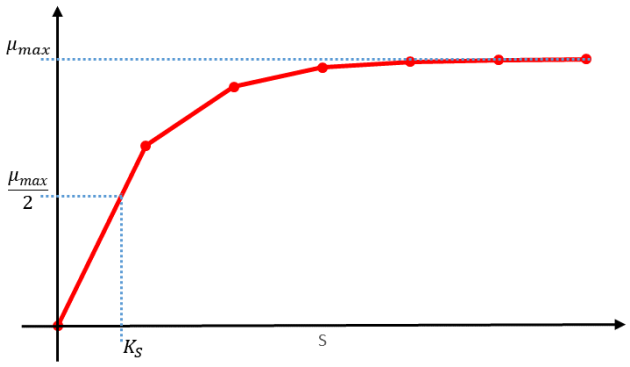
quando comparamos esse modelo em espaço de estados, com a função de transferência (5) podemos observar que ao passo que a função de transferência só apresenta a relação entre $v(s)$ e $i(s)$, o modelo em espaço de estados apresenta uma relação dinâmica de $i(t)$ e $v_C(t)$ para uma entrada $v(t)$. O que permite analisar o impacto da variação de mais de uma entrada no sistema, assim como as relações entre elas.

3.4.4. Exemplos de Modelos Cinéticos em Bioprocessos

Existem diversos modelos cinéticos que descrevem o comportamento do crescimento celular, consumo de substrato e formação de produto em biorreatores.

A Figura 11 ilustra a variação da velocidade de crescimento celular específica em função da concentração do substrato.

Figura 11: Variação da taxa de crescimento celular em função da concentração de substrato.



Fonte: Adaptado de (SCHIMIDELL, LIMA, *et al.*, 1983).

O modelo mais simples e também mais comum é o modelo de Monod, que é representado pela seguinte expressão:

$$\mu_{Monod} = \left(\frac{\mu_{max} \times S}{K_s + S}\right), \tag{24}$$

onde:

$\mu = velocidade\ específica\ de\ crescimento\ (h^{-1})$

$\mu_{max} = velocidade\ específica\ máxima\ de\ crescimento\ (h^{-1})$

$K_s = constante\ de\ saturação\ \left({}^{g}/_{L}\right)$

$S = concentração\ de\ substrato\ \left({}^{g}/_{L}\right)$

O modelo de Monod considera que apenas o substrato do meio limita a velocidade específica de crescimento. Ele consegue representar as fases de aceleração do crescimento e do crescimento exponencial, mas não as fases *lag*, desaceleração do crescimento, estacionária e morte celular.

Outro modelo conhecido é o modelo de Verhulst. O modelo de Verhulst considera que taxa de crescimento é diretamente proporcional a população e também a diferença entre a população e a população máxima em um dado período de tempo.

$$\mu_{Verhulst} = \mu_{máx}\left(1 - \frac{x}{x_{máx}}\right)x \tag{25}$$

onde:

$x = concentração\ de\ células\ \left({}^{g}/_{L}\right)$

$x_{max} = concentração\ máxima\ de\ células\ \left({}^{g}/_{L}\right)$

Ao contrário do modelo de Monod o modelo de Verhulst não é um modelo linear, o que impede a aplicação das transformadas Z e Laplace a menos que o sistema seja linearizado.

Outro modelo cinético da bibliografia é o modelo de Andrews, que leva em consideração a inibição do crescimento celular por altas concentrações de substrato. A taxa de crescimento celular do modelo de Andrews é dada pela seguinte expressão:

$$\mu_{Andrews} = \left(\frac{\mu_{max} \times S}{K_s + S + \frac{S^2}{K'_S}}\right), \tag{26}$$

Onde:

$K'_S = Coeficiente\ de\ inibição\ \left({}^{g}/_{L}\right)$

O modelo de Andrews se distingue do modelo de Monod apenas pelo coeficiente de inibição, podendo ser aplicado em processos onde ocorra o efeito Crabtree, por exemplo.

Os modelos de crescimento não estruturado (Monod e Andrews) podem ser aplicados com sucesso em muito bioprocessos, contudo ajustes serão necessários para uma melhor representação, além disso, eles representam o processo durante um intervalo de tempo menor do que os modelos específicos. Já o modelo de Verhulst consegue representar um processo de fermentação com maior fidelidade, visto que sua curva consegue descrever as fases *lag*, aceleração do crescimento, *log*, desaceleração do crescimento e estacionária, cabendo apenas encontrar os parâmetros adequados ao processo.

4. Metodologia

Neste tópico serão apresentados os materiais e métodos utilizados no desenvolvimento do trabalho. Os dados utilizados para comparar os modelos foram obtidos de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014), que fizeram diversos experimentos utilizando o biorreator *Airlift* e CSTR.

4.1. Biorreator

O biorreator utilizado foi o biorreator *Airlift* com capacidade de 6 L de volume operacional e com temperatura operacional de 32ºC. Na Tabela 1 está apresentada a condição de operação do biorreator nos experimentos utilizados.

Tabela 1: Condição experimental do biorreator utilizada para modelagem.

	Biorreator *Airlift*	
Experimento	Fluxo de ar (L/m)	Conc. Substrato (g/L)
1	15	5
2	10	5
3	5	5
4	15	10

Fonte: Adaptado de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

4.2. Microrganismo

Para os experimentos foi utilizado um tipo de microrganismo comercial fresco. Esse microrganismo pode ser encontrado em padarias ou mercados que possuam levedura de pão. Esse tipo de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) possui 30% de massa seca e 70% de umidade (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

4.3. Meio de Cultura

O meio de cultura foi preparado em um recipiente apropriado com água destilada, o pH foi regulado em 4,6 com ácido. Este meio foi esterilizado em autoclave com todos os equipamentos e ferramentas necessárias (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

Pela Tabela 2 pode-se observar a composição do meio de cultura.

Tabela 2: Composição do meio de cultura.

pH	Glicose	KH_2PO_4	$MgSO_47H_2O$	Extrato de levedura	$(NH_4)_2SO_4$	Água destilada	Surfanol
4,6	10 g/L	5,00 g/L	0,50 g/L	1,52 g/L	4,00 g/L	-	1,00 mL

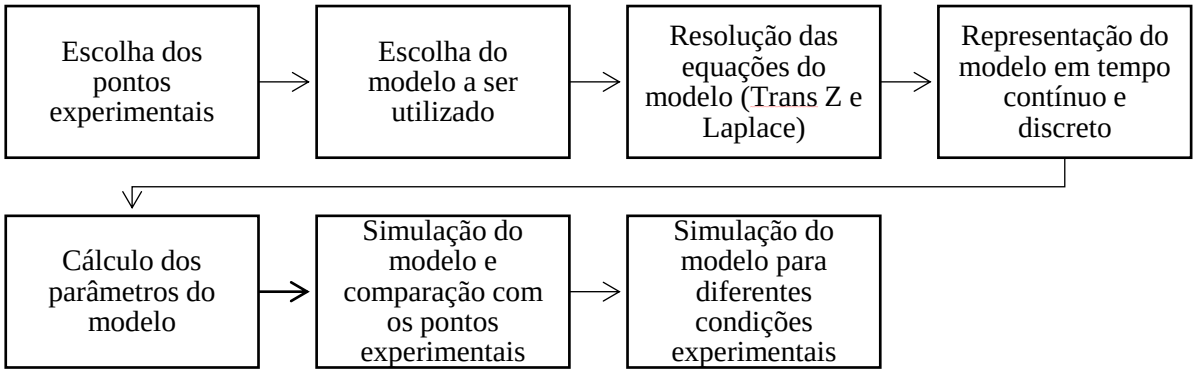
Fonte: Adaptado de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

4.4. Modelagem dos Dados

A modelagem dos dados foi realizada utilizando os modelos cinéticos (Monod, Verhulst e Andrews), as transformas Z e de Laplace foram utilizadas para resolução das equações de diferenças e diferenciais. O modelo de representação de sistemas escolhido para os sistemas lineares (Monod e Andrews) foi o espaço de estados, tanto para os modelos contínuos quanto para os discretos. Os modelos não lineares (Verhulst) foram representados por equações diferenciais (contínuo) e equações de diferenças (discreto).

Para desenvolvimento deste trabalho foi seguido o seguinte passo-a-passo. Apresentado na Figura 12.

Figura 12: Passo a passo para execução da metodologia do trabalho.



Fonte: Elaborado pelo autor.

5. Resultados e Discussão

Serão apresentados nesse tópico os resultados obtidos: modelos matemáticos de Monod, Verhulst e Andrews, pontos experimentais do crescimento celular e consumo de substrato, valores encontrados para os parâmetros dos modelos, curva do modelo contínuo de Monod para as células e para o substrato, curva do modelo discreto de Monod para as células e para o substrato, curva do modelo contínuo de Verhulst para as células e para o substrato, curva do modelo discreto de Verhulst para as células e para o substrato, curva do modelo contínuo de Andrews para as células e para o substrato, curva do modelo discreto de Andrews para as células e para o substrato e, por fim, comparação entre os dados experimentais e modelos discretos e contínuos de Monod, Verhulst e Andrews.

5.1. Modelos Cinéticos

Foram utilizados os seguintes modelos cinéticos para modelagem do crescimento celular e para o consumo de substrato.

- Modelo de Monod;
- Modelo de Verhulst;
- Modelo de Andrews.

5.1.1. Modelo de Monod

Primeiramente foi feito o balanço de massa para as células no biorreator *Airlift* (processo em batelada) utilizando a equação de Monod.

$$\dot{m}_{acumula} = \dot{m}_{entra} - \dot{m}_{sai} + \dot{m}_{gerada} - \dot{m}_{consumida} \tag{27}$$

$$V_{Reator}\frac{dx}{dt} = 0 - 0 + \mu_{Monod} x V_{Reator} - 0 \tag{28}$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{Monod} x \tag{29}$$

onde, conforme a Equação 24:

$$\mu_{Monod} = \left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right)$$

$$x = Concentração\ de\ células$$

$$\frac{dx}{dt} = Taxa\ de\ crescimento\ celular$$

a taxa de consumo de substrato pode ser relacionada ao crescimento celular pela Equação 30, a seguir:

$$\dot{m}_{consumida} = \frac{dS}{dt} = -\alpha \frac{dx}{dt} - \beta x \tag{30}$$

a seguir, foi feito o balanço de massa para o substrato, utilizando a Equação 27:

$$V_{Reator} \frac{dS}{dt} = 0 - 0 + 0 - \left(\alpha \frac{dx}{dt} + \beta x\right) V_{Reator} \tag{31}$$

$$\frac{dS}{dt} = -(\alpha \mu_{Monod} + \beta) x \tag{32}$$

onde:

$$\alpha = \frac{1}{Y_{x/S}} = \frac{S_0 - S}{x - x_0} \tag{33}$$

$$\beta = \frac{1}{Y_{x/S} \times h} = \frac{S_0 - S}{(x - x_0) \times h} \tag{34}$$

$$\frac{dS}{dt} = Taxa\ de\ consumo\ de\ substrato$$

o espaço de estados para o modelo cinético foi montado utilizando as Equações 29 e 32 e está representado a seguir na Equação 35.

$$\begin{bmatrix} \dot{x} \\ \dot{S} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right) & 0 \\ -\left(\alpha \left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right) + \beta\right) & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ S \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_0 \\ S_0 \end{bmatrix}. \tag{35}$$

Depois de montado o modelo cinético, foi aplicada a transformada Z no sistema de equações (Equações 29 e 32), com o objetivo de se obter o espaço de estados discreto para o sistema. Primeiro foi aplicada a transformada Z na Equação 29, conforme mostrado a seguir.

$$x_{n+1} - x_n = \left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right) x_n \tag{36}$$

$$x_{n+1} = \left(1 + \left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right)\right) x_n \tag{37}$$

depois aplicou-se a transformada Z na equação 2, conforme cálculo a seguir:

$$S_{n+1} - S_n = \left(\alpha\left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right) + \beta\right) x_n \tag{38}$$

$$S_{n+1} = S_n - \left(\alpha\left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right) + \beta\right) x_n \tag{39}$$

montando o espaço de estados discreto (Equação 40) com as Equações 37 e 39, temos:

$$\begin{bmatrix} x_{n+1} \\ S_{n+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \left(1 + \left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right)\right) & 0 \\ -\left(\alpha\left(\frac{\mu_{max}S}{K_S + S}\right) + \beta\right) & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_n \\ S_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_0 \\ S_0 \end{bmatrix} \tag{40}$$

que representa o espaço de estados discreto do modelo de Monod, após aplicação da transformada Z.

Após a montagem do espaço de estados do modelo cinético e da transformada Z, resolveu-se analiticamente as Equações 29 e 32. Resolvendo a equação 29, foi obtida a Equação 41:

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{Monod} x$$

$$\frac{dx}{x} = \mu_{Monod} dt$$

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \mu_{Monod} t$$

$$\frac{x(t)}{x_0} = e^{\mu_{Monod} t}$$

$$x(t) = x_0 e^{\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right)t} \tag{41}$$

resolvendo-se analiticamente a Equação 32, obteve-se a Equação 42:

$$\frac{dS}{dt} = -(\alpha\mu_{Monod} + \beta)x$$

$$dS = -(\alpha\mu_{Monod} + \beta)xdt$$

$$\int_{S_0}^{S} dS = -(\alpha\mu_{Monod} + \beta)x \int_0^t dt$$

$$S(t) - S_0 = -(\alpha\mu_{Monod} + \beta)x(t)t, onde\ x(t) = x_0 e^{\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right)t}$$

$$S(t) = S_0 - t\left(\alpha\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right) + \beta\right) x_0 e^{\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right)t} \tag{42}$$

as Equações 41 e 42 representam o modelo linear para o crescimento de células e consumo de substrato respectivamente.

5.1.2. Modelo de Verhulst

Analogamente a equação de Monod, foi realizado inicialmente o balanço de massa para as células utilizando as Equações 27 e 25:

$$V_{Reator}\frac{dx}{dt} = 0 - 0 + \mu_{máx}\left(1 - \frac{x}{x_{máx}}\right) xV_{Reator} - 0 \tag{43}$$

$$\frac{dx}{dt} = \mu_{\text{máx}}\left(1 - \frac{x}{x_{máx}}\right) x \tag{44}$$

na sequência, foi feito o balanço de massa para o substrato (Equação 45), utilizando as Equações 27 e 30:

$$V_{Reator}\frac{dS}{dt} = 0 - 0 + 0 - \left(\alpha\frac{dx}{dt} + \beta x\right)V_{Reator} \tag{45}$$

$$V_{Reator}\frac{dS}{dt} = 0 - 0 + 0 - \left(\alpha\left(\mu\left(1 - \frac{x}{x_{máx}}\right)x\right) + \beta x\right)V_{Reator} \tag{46}$$

$$\frac{dS}{dt} = -\left(\alpha\mu\left(1 - \frac{x}{x_{máx}}\right) + \beta\right)x \tag{47}$$

como o modelo cinético de Verhulst é um modelo não linear, foi necessário linearizá-lo (Equações 29 e 32), a fim de se aplicar a transformada Z e gerar o espaço de estados discreto. A seguir estão reapresentadas as Equações 29 e 32:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - \frac{\mu x^2}{x_{máx}}$$

$$\frac{dS}{dt} = -\alpha\mu x + \alpha\mu\frac{x^2}{x_{máx}} - \beta x$$

foi feita uma linearização em torno de um ponto $x*$ desejável.

$$A = \left|\frac{\partial f}{\partial \vec{x}}\right|_{x^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x} & \frac{\partial f_1}{\partial S} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x} & \frac{\partial f_2}{\partial S} \end{bmatrix}_{x^*} = \begin{bmatrix} \mu - \frac{2\mu}{x_{máx}}x^* & 0 \\ -\alpha\mu + \frac{2\alpha\mu}{x_{máx}}x^* - \beta & 0 \end{bmatrix} \tag{48}$$

$$B = \left|\frac{\partial f}{\partial u}\right|_{x^*} = \begin{bmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial x_0} & \frac{\partial f_1}{\partial S_0} \\ \frac{\partial f_2}{\partial x_0} & \frac{\partial f_2}{\partial S_0} \end{bmatrix}_{x^*} = \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \tag{49}$$

assim, o Espaço de Estados contínuo linearizado pode ser representado pela Equação 50, a seguir.

$$\begin{bmatrix} \Delta\dot{x} \\ \Delta\dot{S} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mu - 2\mu\dfrac{x^*}{x_{máx}} & 0 \\ -\alpha\mu + 2\alpha\mu\dfrac{x^*}{x_{máx}} - \beta & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta x \\ \Delta S \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \Delta x_a \\ \Delta S_a \end{bmatrix}. \tag{50}$$

Para se obter o modelo discreto do sistema, aplicou-se a transformada Z no espaço de estados linearizado (Equação 50). Do espaço de estados linearizado (Equação 50), podemos tirar o seguinte sistema de equações (Equações 51 e 52):

$$\Delta\dot{x} = \left(\mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)\Delta x \tag{51}$$

$$\Delta\dot{S} = \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right)\Delta x \tag{52}$$

aplicando a transformada Z na Equação 51, obteve-se:

$$x_{n+1} - x_n = \mu x_n - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}x_n$$

$$x_{n+1} = x_n + \mu x_n - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}x_n = \left(1 + \mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)x_n$$

$$x_{n+1} = \left(1 + \mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)x_n \tag{53}$$

depois aplicou-se a transformada Z na Equação 52, obtendo-se a Equação 54 a seguir.

$$S_{n+1} - S_n = -\alpha\mu x_n + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}}x_n - \beta x_n$$

$$S_{n+1} = S_n - \alpha\mu x_n + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}}x_n - \beta x_n = S_n + \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right)x_n$$

$$S_{n+1} = S_n + \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right)x_n \tag{54}$$

com base nas Equações 53 e 54, montou-se o espaço de estados do modelo discreto (Equação 55).

$$\begin{bmatrix} x_{n+1} \\ S_{n+1} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \left(1 + \mu - 2\mu \dfrac{x^*}{x_{máx}}\right) & 0 \\ \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu \dfrac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right) & 1 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_n \\ S_n \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 0 & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x_a \\ S_a \end{bmatrix}. \tag{55}$$

O próximo passo foi resolver as equações diferenciais linearizadas do modelo cinético (Equações 51 e 52) com objetivo de se ter a equação da variação de $x, s\ e\ z$ ao longo do tempo, conforme representado a seguir. Da Equação 51, temos:

$$\frac{dx}{dt} = \left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right) x$$

$$\frac{dx}{x} = \left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right) dt$$

$$\int_{x_0}^{x} \frac{dx}{x} = \left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right) \int_0^t dt$$

$$ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right) t$$

$$\frac{x}{x_0} = e^{\left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right)t}$$

$$x(t) = x_0 e^{\left(\mu - 2\mu \frac{x^*}{x_{máx}}\right)t} \tag{56}$$

fazendo a mesma analogia para a Equação 52, obteve-se a Equação 57, que é modelo linearizado para o consumo de substrato ao longo do tempo.

$$\frac{dS}{dt} = \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu \frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right) x$$

$$\int_{S_0}^{S} dS = \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu \frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right) x \int_0^t dt$$

$$S - S_0 = \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right)x(t)t$$

$$S - S_0 = \left(-\alpha\mu + 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} - \beta\right)\left(x_0 e^{\left(\mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)t}\right)t$$

$$S(t) = S_0 - \alpha\mu t x_0 e^{\left(\mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)t} - 2\alpha\mu\frac{x^*}{x_{máx}} t x_0 e^{\left(\mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)t} - \beta t x_0 e^{\left(\mu - 2\mu\frac{x^*}{x_{máx}}\right)t} \quad (57)$$

5.1.3. Modelo de Andrews

O desenvolvimento dos modelos cinéticos, discreto e linear de Andrews é idêntico ao desenvolvimento do modelo de Monod, mudando apenas o coeficiente cinético (μ), por este motivo os modelos em espaço de estados serão apresentados diretamente, conforme a seguir (cálculos foram omitidos pois são redundantes).

Espaço de estados do modelo contínuo.

$$\begin{bmatrix}\dot{x}\\ \dot{S}\end{bmatrix} = \begin{bmatrix}\left(\dfrac{\mu_{max}S}{K_S + S + \dfrac{S^2}{K'_S}}\right) & 0\\ -\left(\alpha\left(\dfrac{\mu_{max}S}{K_S + S + \dfrac{S^2}{K'_S}}\right) + \beta\right) & 0\end{bmatrix}\begin{bmatrix}x\\ S\end{bmatrix} + \begin{bmatrix}0 & 0\\ 0 & 0\end{bmatrix}\begin{bmatrix}x_0\\ S_0\end{bmatrix} \quad (58)$$

espaço de estados do modelo discreto.

$$\begin{bmatrix}x_{n+1}\\ S_{n+1}\end{bmatrix} = \begin{bmatrix}\left(1 + \left(\dfrac{\mu_{max}S}{K_S + S + \dfrac{S^2}{K'_S}}\right)\right) & 0\\ -\left(\alpha\left(\dfrac{\mu_{max}S}{K_S + S + \dfrac{S^2}{K'_S}}\right) + \beta\right) & 1\end{bmatrix}\begin{bmatrix}x_n\\ S_n\end{bmatrix} + \begin{bmatrix}0 & 0\\ 0 & 0\end{bmatrix}\begin{bmatrix}x_0\\ S_0\end{bmatrix} \quad (59)$$

equação do modelo contínuo para as células e substrato (Equações 60 e 61 respectivamente) em função do tempo.

$$x(t) = x_0 e^{\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K'_S}}\right) t} \tag{60}$$

$$S(t) = S_0 - t\left(\alpha\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K'_S}}\right) + \beta\right) x_0 e^{\left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S + \frac{S^2}{K'_S}}\right) t}. \tag{61}$$

Após determinação dos parâmetros, os modelos foram simulados utilizando o *software* GNU Octave.

5.2. Determinação dos parâmetros dos modelos

Após a montagem dos modelos que foram utilizados no estudo, o próximo passo foi determinar os parâmetros cinéticos dos modelos. Esta etapa foi feita utilizando os dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

5.2.1. Determinação de $\mu_{máx}$ *e* K_S

Para determinação de $\mu_{máx}$, foi utilizada a seguinte relação, válida para a região de crescimento exponencial.

$$\frac{dx}{dt} = \mu x$$

$$\frac{dx}{x} = \mu dt$$

$$\int_{x_i}^{x} \frac{dx}{x} = \mu \int_{t_i}^{t} dt$$

$$\ln\left(\frac{x}{x_i}\right) = \mu(t - t_i)$$

$$\mu = \frac{\ln\left(\frac{x}{x_i}\right)}{(t - t_i)} \tag{62}$$

calculou-se μ para todos os pontos da região de crescimento exponencial da curva de crescimento celular e determinou-se como $\mu_{máx}$ o maior desses valores.

Para determinar K_S, foi utilizada a equação do μ de Monod e aplicada a condição $S = K_S$. Que resulta na seguinte relação:

$$\mu = \left(\frac{\mu_{max} S}{K_S + S}\right)$$

$$\mu = \left(\frac{\mu_{max} K_S}{K_S + K_S}\right) = \frac{\mu_{max}}{2} \tag{63}$$

sendo assim, K_S corresponde ao ponto de S, no gráfico $\mu \times S$, onde $\mu = \frac{\mu_{max}}{2}$.

5.2.2. Determinação de α e β

Os parâmetros α e β da equação do substrato foram determinados utilizando as Equações 28 e 29. Foi considerado a mesma região da curva onde foi determinado o $\mu_{máx}$ para o cálculo.

$$\alpha = \frac{S_0 - S}{x - x_0} \tag{64}$$

$$\beta = \frac{S_0 - S}{(x - x_0) \times h} \tag{65}$$

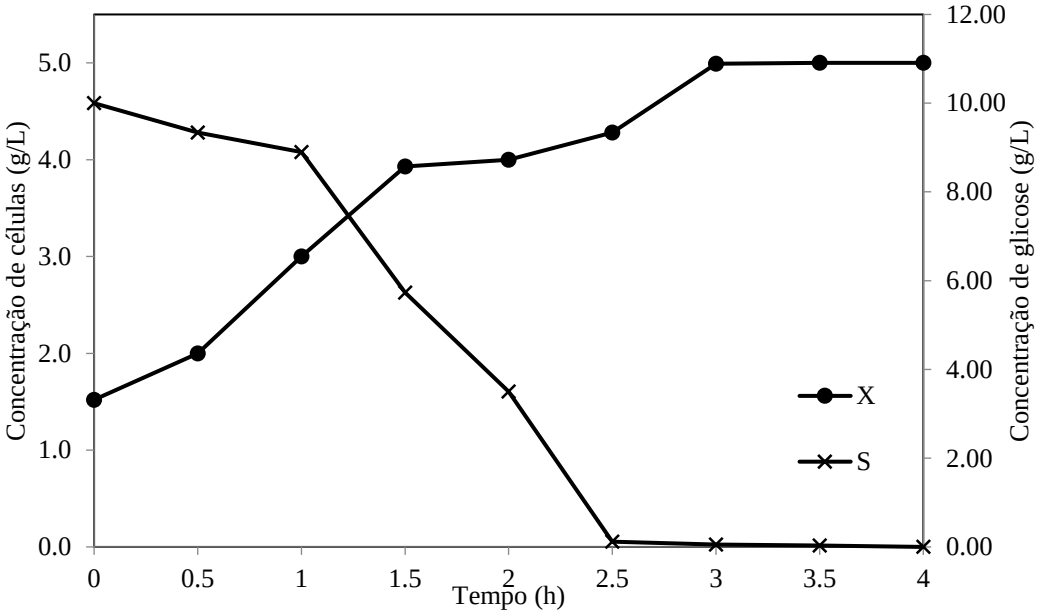
5.2.3. Determinação de K'_S

O parâmetro K'_S foi encontrado de forma empírica, simulando-se o modelo várias vezes, encontrando assim um valor para o parâmetro que melhor descrevesse o comportamento do processo estudado. O que levou a conclusão que, para as condições de operação modeladas, não ocorre inibição pelo substrato e, consequentemente o valor de $K'_S \rightarrow \infty$, o que significa dizer que o processo estudado não sofre inibição do crescimento celular pelo substrato.

5.3. Pontos experimentais do crescimento celular e do consumo de substrato

Na Figura 13 estão apresentadas as curvas de crescimento celular e de consumo de substrato obtidas do trabalho de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

Figura 13: Dados experimentais obtidos no cultivo de *"Saccharomyces cerevisiae"* em biorreator *"Airlift"*. Concentração inicial de substrato 10 g/L, 3 VVm, 15 L/min.



Fonte: Adaptado de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

A região de crescimento exponencial foi considerada de 0,5 a 1,5 h. Os parâmetros para os modelos foram retirados nessa região da curva de crescimento microbiano.

5.4. Valores encontrados para os parâmetros $\mu_{máx}, K_S, K'_S, \alpha\ e\ \beta$

Os valores encontrados para os parâmetros estão descritos na Tabela 3, não foram encontrados na literatura valores para comparação, o que significa dizer que os parâmetros são inéditos para esta levedura nas condições operacionais estudadas. Todos os modelos foram simulados utilizando os parâmetros calculados.

Tabela 3: Valores encontrados para os parâmetros a serem utilizados nos modelos.

Parâmetro	Unidade	Calculado
$\mu_{máx}$	(h^{-1})	0,8109
K_S	($g.L^{-1}$)	5,1360
K'_S	($g.L^{-1}$)	42,1577
α	Adimensional	2,8649
β	Adimensional	0,0120
μ_{Monod}	(h^{-1})	0,5357
$\mu_{Andrews}$	(h^{-1})	0,48

5.5. Modelo de Monod

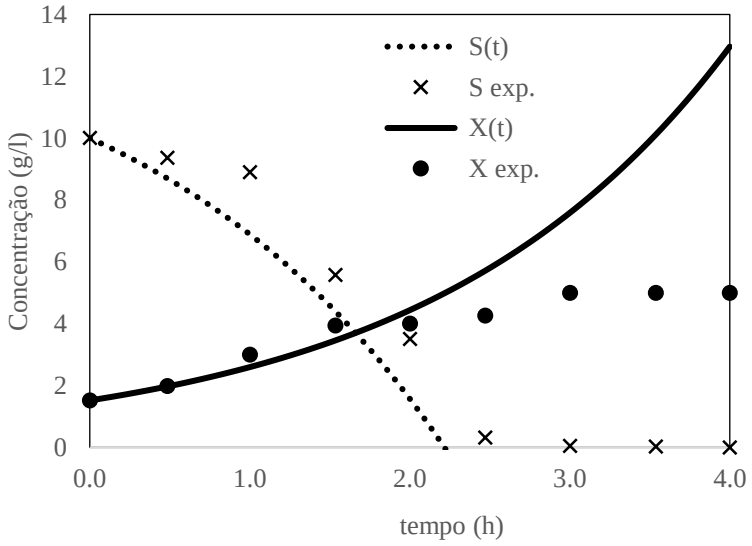
Neste tópico foram mostrados os resultados das simulações com os modelos contínuos e discretos calculados utilizando a cinética de Monod.

5.5.1. Contínuo

Após geração do modelo contínuo de Monod, os dados obtidos foram comparados aos pontos experimentais desse trabalho. Os resultados dessa comparação podem ser verificados na Figura 14. O modelo contínuo de Monod representa o crescimento celular até duas horas de fermentação, depois desse instante os pontos continuam a evoluir exponencialmente, apresentando grandes discrepâncias em relação ao comportamento real (erros apresentados na Tabela 4).

Para o consumo de substrato o modelo apresenta uma taxa de consumo superior a observada nos pontos experimentais (erros apresentados na Tabela 5). Pelo modelo, o substrato é 100% consumido cerca de 20 min antes do que aconteceu na realidade, mesmo assim este modelo pode ser utilizado para representar o processo até 2 h de fermentação.

Figura 14: Comparação entre o modelo contínuo de Monod e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



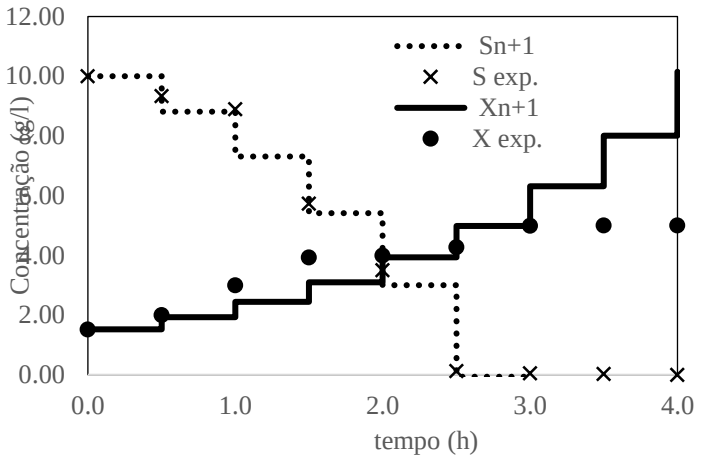
Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

5.5.2. Discreto

De forma análoga ao modelo contínuo de Monod, utilizou-se o Microsoft Excel para comparar as curvas geradas pelo modelo cinético com os pontos experimentais obtidos em laboratório. A comparação pode ser observada na Figura 15.

O modelo discreto descreve o processo até 3 horas de fermentação, porém com um erro superior ao modelo contínuo de Monod no intervalo de 1 a 1,5 h (erros apresentados nas Tabelas 6 e 7). Quando comparado ao modelo contínuo, o modelo discreto apresenta um crescimento celular e uma taxa de consumo de substrato mais coerente com o que acontece nos pontos experimentais, tornando o modelo aceitável para até 3h de fermentação.

Figura 15: Comparação entre o modelo discreto de Monod e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

Comparando os modelos contínuo e discreto de Monod, pode-se afirmar que o modelo contínuo representa o processo até 2 h de fermentação e o modelo discreto até 3 h, contudo o modelo contínuo é mais preciso durante as 2 h iniciais do processo (vide erros nas Tabelas 4, 5, 6 e 7).

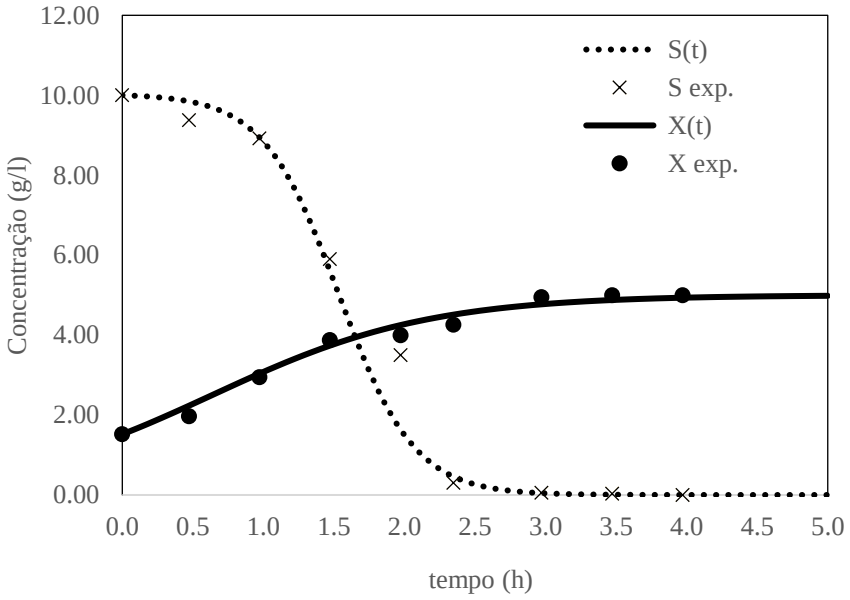
5.6. Modelo de Verhulst

O modelo de Verhulst é um modelo não linear, para se aplicar as Transformadas Z e de Laplace o modelo precisa ser linearizado, neste trabalho o modelo foi resolvido das duas formas, não linear e linear. Para resolução do sistema contínuo não linear foi utilizada a técnica *"ode 45 do Software Octave®"*, para a resolução do modelo discreto não linear as equações diferenciais foram escritas no formato de equações de diferenças, após isto foram resolvidas ponto a ponto com auxílio do *Microsft Excel®*. Para obtenção da curva do modelo discreto linear foi utilizada a técnica de linearização, depois aplicou-se a transformada Z gerando o modelo em espaço de estados que posteriormente foi simulado com *Software Octave®*.

5.6.1. Contínuo não linear

Pode-se observar pela Figura 16 que esse modelo se ajusta com precisão aos pontos experimentais até a fase de desaceleração do crescimento (vide erros nas Tabelas 4 e 5). Este modelo foi o que melhor se ajustou aos pontos experimentais frente a todos os modelos comparados neste trabalho.

Figura 16: Comparação entre o modelo não linear contínuo de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório.

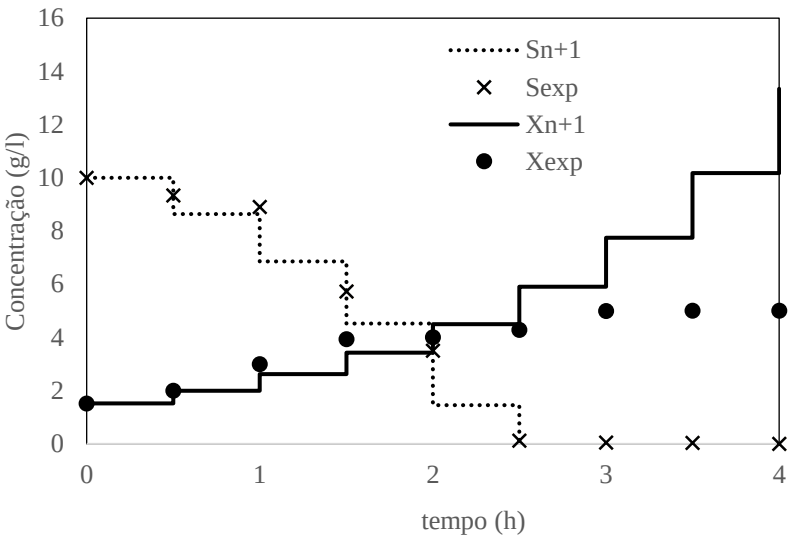


Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

5.6.2. Discreto linear e não linear

Pela Figura 17 pode-se observar a comparação do modelo linear discreto de Verhulst com os pontos experimentais. Observa-se que o modelo representa os pontos experimentais até duas horas de fermentação, de 2 a 3 h apresenta um comportamento ainda aceitável, mas como menor precisão (vide erros, Tabelas 6 e 7). Fica claro ao comparar os modelos não lineares e lineares de Verhult o que foi explicado anteriormente: os modelos lineares não são capazes de representar bem as fases *lag*, desaceleração do crescimento e a fase estacionária, ao passo que os modelos não lineares são capazes de representar essas fases com precisão. Apesar disto, dependendo do que se deseja modelar ou controlar, os modelos lineares trazem a informação desejada tendo a vantagem de serem resolvidos analiticamente com as Tranformadas Z e de Laplace.

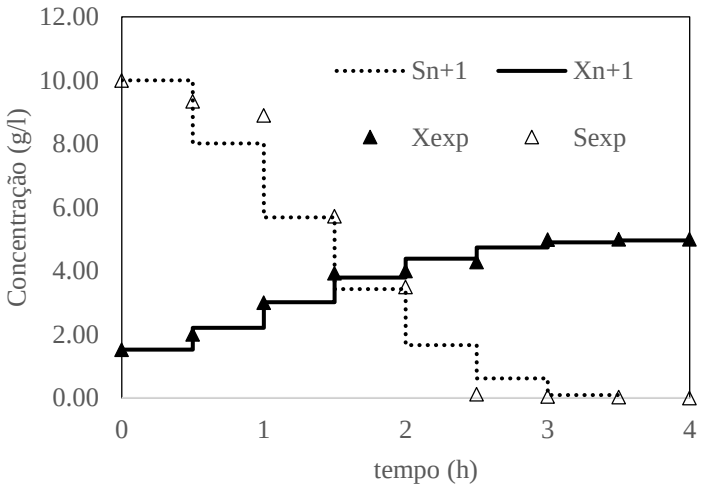
Figura 17: Comparação entre o modelo linear discreto de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

O modelo não linear discreto de Verhulst apresentou um ajuste semelhante ao modelo não linear contínuo para o crescimento celular, já para o consumo de substrato, apresentou uma queda mais lenta na concentração quando comparado ao modelo contínuo. Dentre todos os modelos comparados o modelo não linear discreto apresentou o segundo melhor ajuste aos pontos experimentais (Figura 18), sendo superado apenas pelo modelo não linear contínuo de Verhulst.

Figura 18: Comparação entre o modelo não linear discreto de Verhulst e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

5.7. Modelo de Andrews

Antes de plotar os modelos de Andrews, será feita uma abordagem sobre o coeficiente de inibição pelo substrato, o objetivo é explicar o motivo pelo qual o modelo não se mostrou uma boa opção para representar o processo em estudo.

Da Equação 26 temos:

$$\mu_{Andrews} = \left(\frac{\mu_{max} \times S}{K_s + S + \frac{S^2}{K'_S}} \right)$$

$$(\mu_{Andrews}) \left(K_s + S + \frac{S^2}{K'_S} \right) = (\mu_{max} \times S)$$

$$(\mu_{Andrews}) \left(\frac{K_s \times K'_S + S \times K'_S + S^2}{K'_S} \right) = (\mu_{max} \times S)$$

$$(\mu_{Andrews})(K_s \times K'_S + S \times K'_S + S^2) = (\mu_{max} \times S)(K'_S)$$

$$\mu_{Andrews} K_s K'_S + \mu_{Andrews} S K'_S + \mu_{Andrews} S^2 = \mu_{max} S K'_S$$

$$-\mu_{Andrews} K_s K'_S - \mu_{Andrews} S K'_S + \mu_{max} S K'_S = \mu_{Andrews} S^2$$

$$K'_S(\mu_{max} S - \mu_{Andrews} K_s - \mu_{Andrews} S) = \mu_{Andrews} S^2$$

$$K'_S = \frac{\mu_{Andrews} S^2}{(\mu_{max} S - \mu_{Andrews} K_s - \mu_{Andrews} S)} = \frac{100 \times \mu_{Andrews}}{(8{,}109 - 15{,}136 \times \mu_{Andrews})} \qquad (66)$$

$$Se\ \mu_{Andrews} \to 0, logo\ K'_S \to 0$$

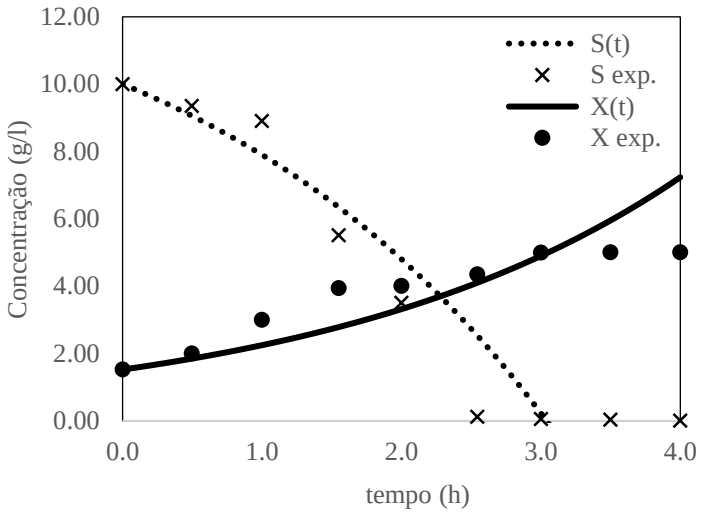
$$Se\ \mu_{Andrews} = \mu_{Monod} = 0{,}5357, \qquad logo\ K'_S \to \infty$$

Com isso, podemos concluir que quanto maior a inibição, menor será o valor de K'_S, após essa conclusão ajustou-se o valor de $\mu_{Andrews}$ e por consequência do de K'_S.

Após geração do modelo, as curvas do modelo contínuo de Andrews foram comparadas aos pontos experimentais (Figura 19). O modelo de Andrews não representa bem a curva de crescimento celular quando comparado aos demais modelos, (vide erros, Tabelas 4 e 5), mesmo

para as 2 h iniciais de fermentação. Uma das possíveis explicações é o fato da fermentação não apresentar inibição do crescimento celular pelo substrato.

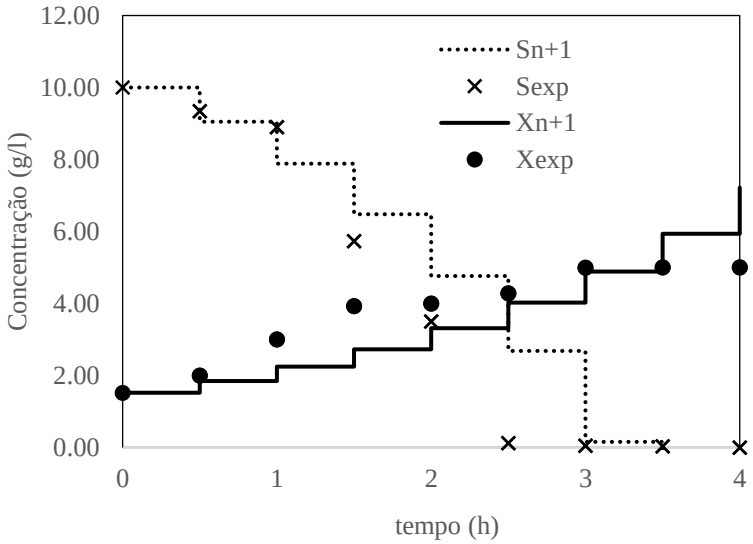
Figura 19: Comparação entre o modelo contínuo de Andrews e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

Pela Figura 20 observa-se o comportamento do crescimento celular e do consumo de substrato, segundo o modelo discreto de Andrews. Os resultados foram análogos aos do modelo contínuo.

Figura 20: Comparação entre o modelo discreto de Andrews e os pontos experimentais obtidos em laboratório.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014).

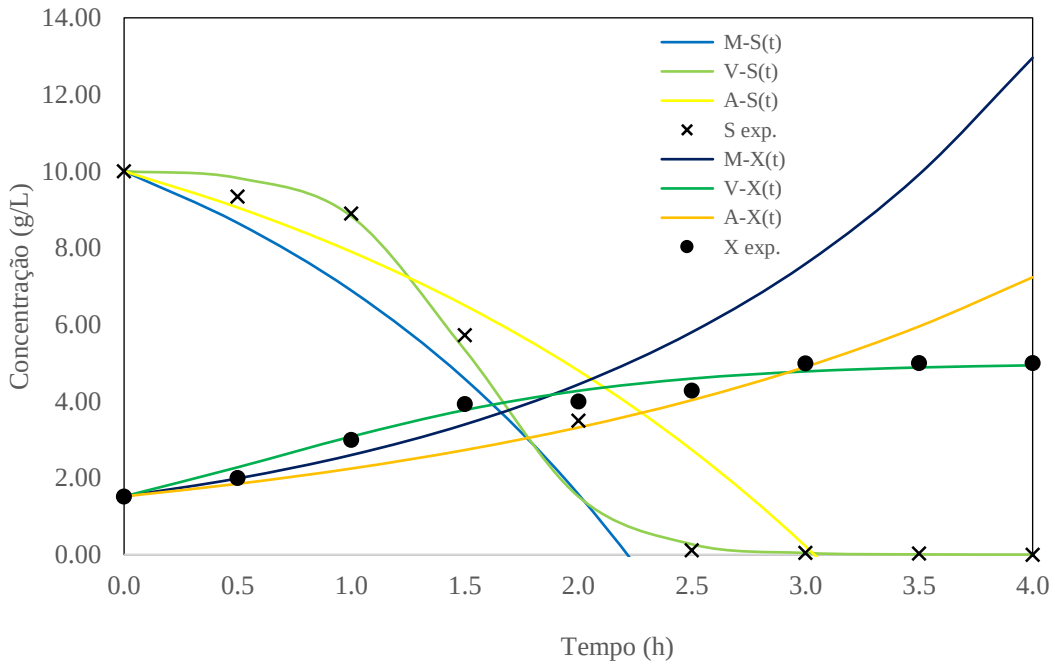
5.8. Comparação entre os modelos

Serão apresentadas nesse tópico as comparações entre os modelos e os pontos experimentais, primeiramente os modelos em tempo contínuo (Laplace) e depois os modelos em tempo discreto (Transformada Z).

5.8.1. Contínuos

A Figura 21 traz as curvas de crescimento microbiano e consumo de substrato para os modelos e Monod, Verhulst e Andrews e os compara aos pontos experimentais.

Figura 21: Comparação entre os modelos contínuos de Monod, Verhulst e Andrews para o crescimento celular e consumo de substrato (*Saccharomyces cerevisiae* em Biorreator *Airlift*).



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014). Onde M-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Monod, V-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Verhulst, A-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Andrews, M-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Monod, V-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Verhulst, A-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Andrews e X e S são respectivamente os pontos experimentais para o crescimento celular e para o consumo de substrato.

Pela observação da Figura 21, podemos concluir que o modelo contínuo que melhor representa os pontos experimentais é o modelo de Verhulst, apresentando um erro médio de 0,17 g/L para o crescimento celular e 0,35 g/L para o consumo de substrato. Caso seja necessário o uso de um modelo com cálculo matemático mais simples, pode-se optar pelo uso do modelo de Monod para até duas horas de fermentação, durante esse período o modelo

apresenta um erro médio de 0,28 g/L para o crescimento celular e 1,15 g/L para o consumo de substrato, depois desse período de duas horas o único modelo que pode ser usado é o modelo de Verhulst. O modelo de Andrews mostrou o pior desempenho entre os três modelos, erro médio para 2 horas de fermentação de 0,56 g/L para o crescimento celular e 0,67 g/L para o consumo de substrato, pelo fato desse processo não apresentar inibição pelo substrato nas condições operacionais estudadas.

As Tabelas 4 e 5 trazem os valores comparativos para o crescimento celular e o consumo de substrato entre os pontos experimentais e os modelos contínuos de Monod, Verhulst e Andrews, assim como os respectivos erros.

Tabela 4: Comparação dos erros dos modelos contínuos para o crescimento celular em relação aos pontos experimentais.

Tempo (h)	Dados Experimentais	Monod		Verhulst		Andrews	
		Valor	Erro	Valor	Erro	Valor	Erro
0	1.520	1.520	0.000	1.520	0.000	1.520	0.000
0.5	2.000	1.987	-0.013	2.278	0.278	1.847	-0.153
1	3.000	2.597	-0.403	3.078	0.078	2.245	-0.755
1.5	3.930	3.396	-0.534	3.770	-0.160	2.729	-1.201
2	4.000	4.438	0.438	4.272	0.272	3.316	-0.684
2.5	4.280	5.803	1.523	4.592	0.312	4.030	-0.250
3	4.990	7.584	2.594	4.778	-0.212	4.897	-0.093
3.5	5.000	9.916	4.916	4.882	-0.118	5.950	0.950
4	5.000	12.959	7.959	4.938	-0.062	7.233	2.233

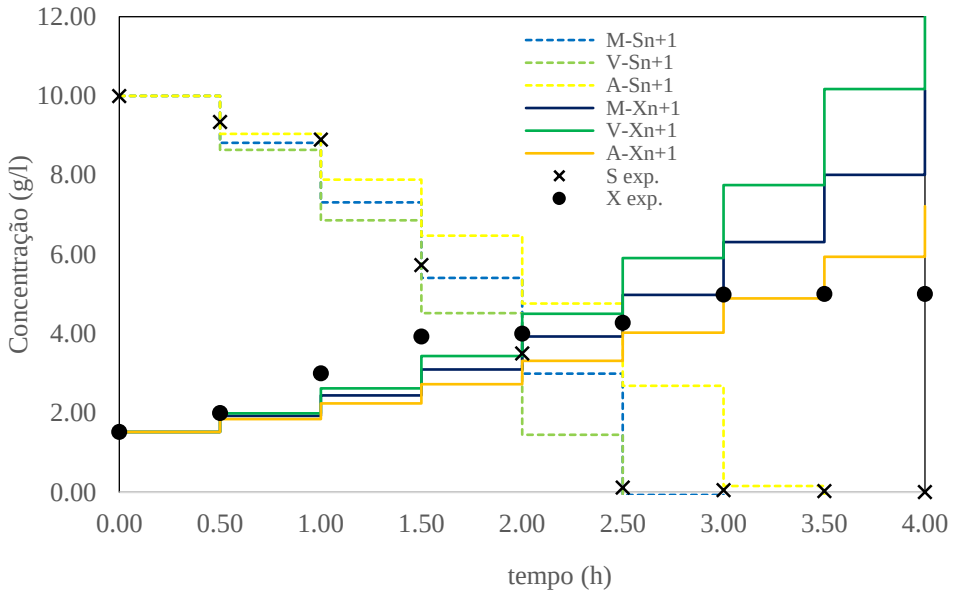
Tabela 5: Comparação dos erros dos modelos contínuos para o consumo de substrato em relação aos pontos experimentais.

Tempo (h)	Dados Experimentais	Monod		Verhulst		Andrews	
		Valor	Erro	Valor	Erro	Valor	Erro
0	10.000	10.000	0.000	10.000	0.000	10.000	0.000
0.5	9.340	8.651	-0.689	9.823	0.483	9.052	-0.288
1	8.900	6.889	-2.011	8.826	-0.074	7.901	-0.999
1.5	5.730	4.584	-1.146	5.340	-0.390	6.500	0.770
2	3.500	1.574	-1.926	1.517	-1.983	4.800	1.300
2.5	0.120	-2.366	-2.486	0.269	0.149	2.731	2.611
3	0.050	-7.508	-7.558	0.043	-0.007	0.220	0.170
3.5	0.030	-14.241	-14.271	0.007	-0.023	-2.829	-2.859
4	0.000	-23.027	-23.027	0.001	0.001	-6.544	-6.544

5.8.2. Discretos

Pela Figura 22 pode-se fazer a comparação entre os modelos discretos lineares estudados e também compará-los aos pontos experimentais.

Figura 22: Comparação entre os modelos discretos de Monod, Verhulst (linearizado) e Andrews para o crescimento celular e consumo de substrato (*Saccharomyces cerevisiae* em Biorreator *Airlift*).



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014). Onde M-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Monod, V-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Verhulst, A-S(t) é o consumo de substrato pelo modelo de Andrews, M-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Monod, V-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Verhulst, A-X(t) é o crescimento celular pelo modelo de Andrews e X e S são respectivamente os pontos experimentais para o crescimento celular e para o consumo de substrato.

As Tabelas 7 e 8 trazem os valores comparativos para o crescimento celular e o consumo de substrato entre os pontos experimentais e os modelos discretos de Monod, Verhulst e Andrews, assim como os respectivos erros.

Tabela 6: Comparação dos erros dos modelos discretos para o crescimento celular em relação aos pontos experimentais.

Tempo (h)	Dados Experimentais	Monod		Verhulst		Andrews	
		Valor	Erro	Valor	Erro	Valor	Erro
0	1.520	1.520	0.000	1.520	0.000	1.520	0.000
0.5	2.000	1.927	-0.073	1.994	-0.006	1.847	-0.153
1	3.000	2.443	-0.557	2.616	-0.384	2.244	-0.756
1.5	3.930	3.098	-0.832	3.433	-0.497	2.726	-1.204
2	4.000	3.928	-0.072	4.504	0.504	3.312	-0.688
2.5	4.280	4.980	0.700	5.909	1.629	4.025	-0.255
3	4.990	6.314	1.324	7.753	2.763	4.890	-0.100
3.5	5.000	8.005	3.005	10.171	5.171	5.941	0.941
4	5.000	10.150	5.150	13.345	8.345	7.219	2.219

Tabela 7: Comparação dos erros dos modelos discretos para o consumo de substrato em relação aos pontos experimentais.

Tempo (h)	Dados Experimentais	Monod		Verhulst		Andrews	
		Valor	Erro	Valor	Erro	Valor	Erro
0	10.000	10.000	0.000	10.000	0.000	10.000	0.000
0.5	9.340	8.815	-0.525	8.641	-0.699	9.046	-0.294
1	8.900	7.313	-1.587	6.859	-2.041	7.886	-1.014
1.5	5.730	5.409	-0.321	4.520	-1.210	6.477	0.747
2	3.500	2.994	-0.506	1.452	-2.048	4.765	1.265
2.5	0.120	-0.067	-0.187	-2.574	-2.694	2.685	2.565
3	0.050	-3.949	-3.999	-7.856	-7.906	0.157	0.107
3.5	0.030	-8.870	-8.900	-14.785	-14.815	-2.913	-2.943
4	0.000	-15.109	-15.109	-23.877	-23.877	-6.644	-6.644

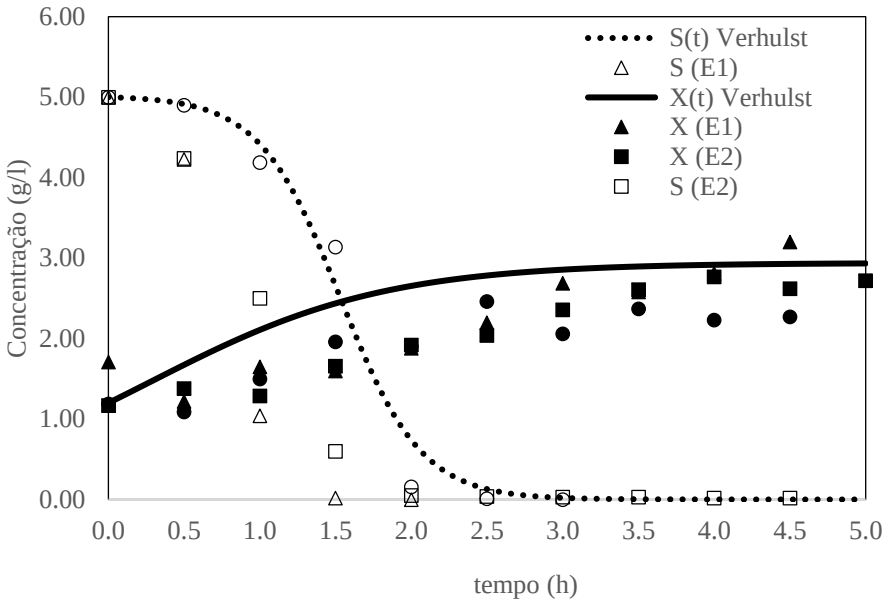
O modelo discreto de Andrews não representa bem o crescimento celular, apresentando um erro médio (durante as duas primeiras 2 h de fermentação) de 0,56 g/L para o crescimento celular e de 0,66 g/L para o consumo de substrato, os modelos discretos de Monod e o de Verhulst conseguem representar o processo até 2 h de fermentação com um erro médio de 0,31 g/L (crescimento celular Monod), 0,59 g/L (consumo de substrato Monod), 0,28 g/L (crescimento celular Verhulst) e 1,20 g/L (consumo de substrato Verhulst), mas nenhum deles consegue representar bem o processo após esse tempo, o que se explica pelo fato da transformada Z poder ser aplicada apenas em equações diferenciais lineares. O modelo não linear discreto de Verhulst, embora não esteja representado no gráfico, foi o que melhor o processo estudado, com erros similares ao do modelo em tempo contínuo não linear de Verhulst. É importante ressaltar que os modelos lineares são perfeitamente aplicáveis a algumas situações de controle e previsão do crescimento celular, com a grande vantagem de apresentar uma solução analítica mais simples, por este motivo buscou-se aplicar as Transformadas Z de Laplace para obtenção dos modelos lineares discretos e contínuos.

5.9. Simulação do modelo de Verhulst para outras condições de entrada

Após a comparação de todos os modelos desenvolvidos, observou-se que o modelo que melhor representou o comportamento do processo foi o modelo não linear de Verhulst, seja para tempo contínuo ou tempo discreto. Utilizando este modelo a concentração inicial de células foi modificada para 1,2 g/L e a concentração inicial de substrato para 5 g/L. O modelo foi simulado novamente, o resultado foi comparado aos pontos experimentais dos ensaios 1, 2 e 3 da Tabela 1. O resultado dessa comparação está ilustrado na Figura 23 a seguir.

Pode-se concluir que o modelo de Verhulst em tempo contínuo representou bem os pontos para uma outra condição inicial do processo (Figura 23), o que leva a conclusão que o modelo pode ser utilizado para simulação do processo e / ou uma posterior ampliação de escala. Algum ajuste deverá ser feito com o objetivo de melhorar a representatividade do consumo de substrato, mas de maneira geral o modelo representa o processo fermentativo estudado de maneira satisfatória.

Figura 23: Comparação do modelo contínuo de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de *(CERRI, FERREIRA,* et al., *2014)*. Condições de operação conforme Tabela 1 para os experimentos 1, 2 e 3.

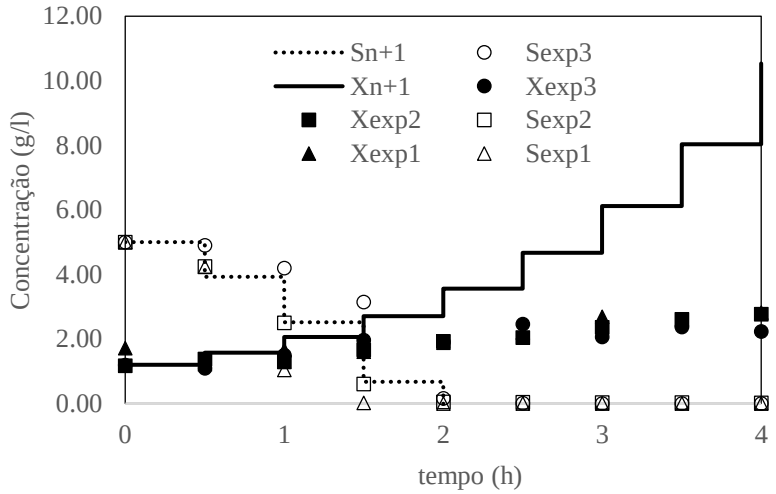


Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014). X(E1) = concentração de células do experimento 1, S(E1) = concentração de substrato do experimento 1, X(E2) = concentração de células do experimento 2, X(E2) = concentração de substrato do experimento 2, X(E3) = concentração de células do experimento 3, S(E3) = concentração de substrato do experimento 3.

Seguindo o mesmo raciocínio, também se simulou o modelo discreto linear de Verhulst com uma concentração inicial de células de 1,2 g/L e uma concentração inicial de substrato de 5 g/L e comparou-se aos resultados dos experimentos 1, 2 e 3 da Tabela 1. Os resultados estão apresentados na Figura 24.

Pela análise do gráfico, pode-se observar que o modelo, com as condições iniciais alteradas, pode ser utilizado para representar o processo até 2 h de fermentação. Isso prova que embora a Transformada Z e os modelos discreto não sejam comumente aplicados aos bioprocessos eles são capazes de descreve-los da mesma forma que outros modelos mais populares, no mínimo temos mais uma ferramenta para modelagem desse tipo de processo.

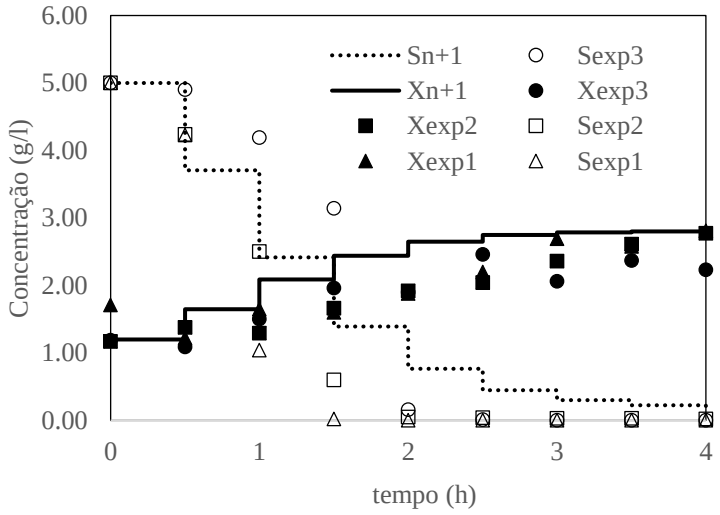
Figura 24: Comparação do modelo discreto de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de *(CERRI, FERREIRA,* et al., *2014)*. Condições de operação conforme Tabela 1 para os experimentos 1, 2 e 3.



Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014). X(E1) = concentração de células do experimento 1, S(E1) = concentração de substrato do experimento 1, X(E2) = concentração de células do experimento 2, X(E2) = concentração de substrato do experimento 2, X(E3) = concentração de células do experimento 3, S(E3) = concentração de substrato do experimento 3.

Por último, pode-se observar pela Figura 25 a comparação do modelo não linear discreto de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.

Figura 25: Comparação do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos experimentais do trabalho de *(CERRI, FERREIRA,* et al., *2014)*. Condições de operação conforme Tabela 1 para os experimentos 1, 2 e 3.



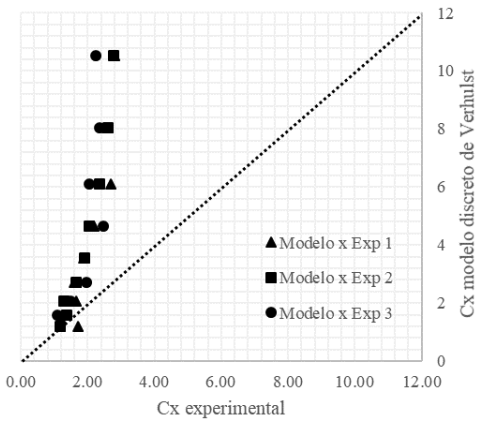
Fonte: Dados experimentais de (CERRI, FERREIRA, *et al.*, 2014). X(E1) = concentração de células do experimento 1, S(E1) = concentração de substrato do experimento 1, X(E2) = concentração de células do experimento 2, X(E2) = concentração de substrato do experimento 2, X(E3) = concentração de células do experimento 3, S(E3) = concentração de substrato do experimento 3.

Pode-se concluir que o modelo não linear discreto de Verhulst representa com precisão o crescimento celular do processo, assim como o consumo de substrato, perdendo em precisão apenas para o modelo não linear de Verhulst em tempo contínuo.

5.10. Gráficos de dispersão dos modelos contínuo e discretos de Verhulst

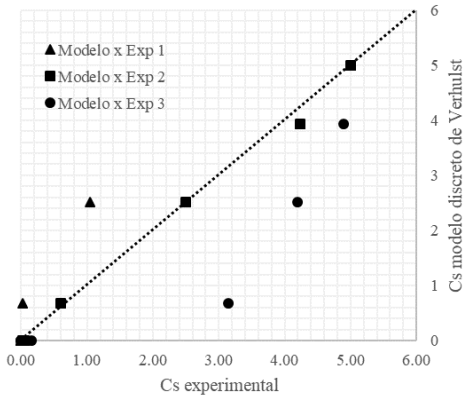
Os gráficos das Figuras 26 e 27 comparam os pontos do modelo discreto linearizado de Verhulst (eixo das abscissas) com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3 (eixo das ordenadas) para o crescimento celular e para o consumo de substrato respectivamente, quanto mais os pontos se aproximam da linha pontilhada melhor a correlação dos pontos do modelo com o comportamento real apresentado nos experimentos 1, 2 e 3.

Figura 26: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 27: Comparação dos pontos do consumo de substrato do modelo discreto de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.



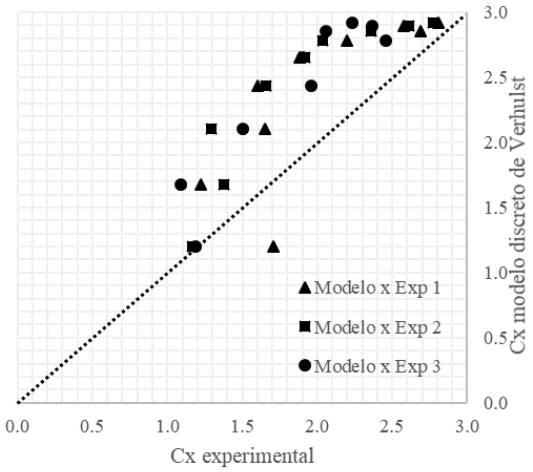
Fonte: Elaborado pelo autor.

Observa-se na Figura 26 que os cinco primeiros pontos (da esquerda para a direita) de cada experimento estão próximos a linha pontilhada, ou seja, até o quinto ponto (equivalente a 2 h de fermentação) os pontos do modelo representam os experimentos, a partir do 6º ponto, o modelo não mais reflete a realidade dos experimentos.

Pela Figura 27 observamos o comportamento para o consumo de substrato. Nota-se que os pontos do experimento 2 estão muito próximos dos pontos do modelo, seguidos dos pontos do experimento 1 e por último os pontos do experimento 3. Pode-se concluir que o modelo discreto de Verhulst pode ser usado para se obter o consumo de substrato do processo de fermentação até que a concentração atinja 0 g/L.

Os gráficos de dispersão do modelo contínuo não linear de Verhulst podem ser observados nas Figuras 28 (crescimento celular) e 29 (consumo de substrato).

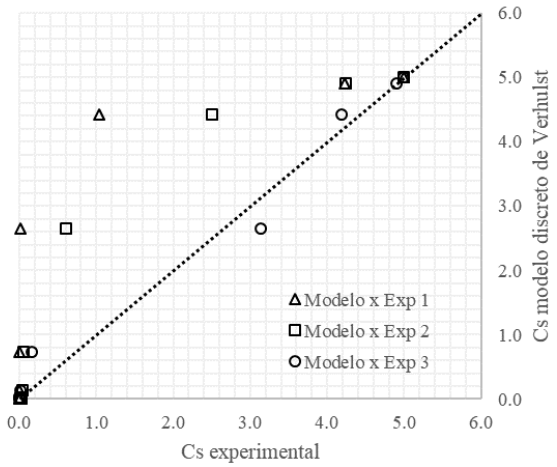
Figura 28: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo contínuo de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Observando a Figura 28, fica claro que o modelo apresenta uma taxa de crescimento superior a observada nos experimentos 1, 2 e 3. Uma explicação é o fato do modelo ter sido elaborado em uma condição onde a quantidade inicial de inóculo era superior. Mesmo assim o modelo pode ser utilizado para representar o processo fermentativo de forma satisfatória, conforme gráfico de dispersão da Figura 28.

Figura 29: Comparação dos pontos do consumo de substrato do modelo contínuo de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.

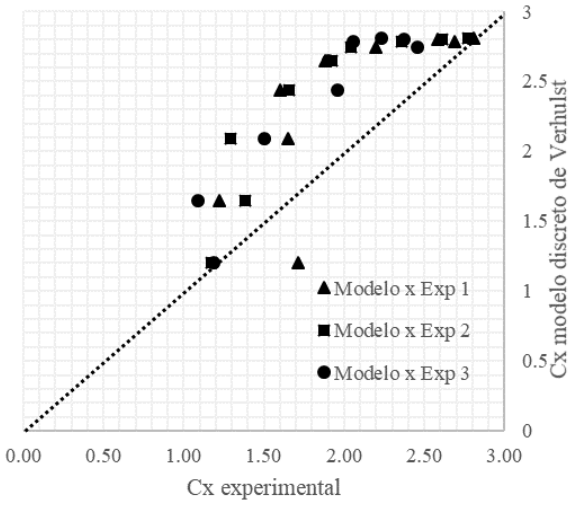


Fonte: Elaborado pelo autor.

Para o consumo de substrato o modelo se ajustou aos pontos do experimento nº 3, seguido pelos pontos do experimento 2 e, por fim os pontos do experimento 1, o que indica que o modelo pode ser utilizado para a modelagem do processo estudado.

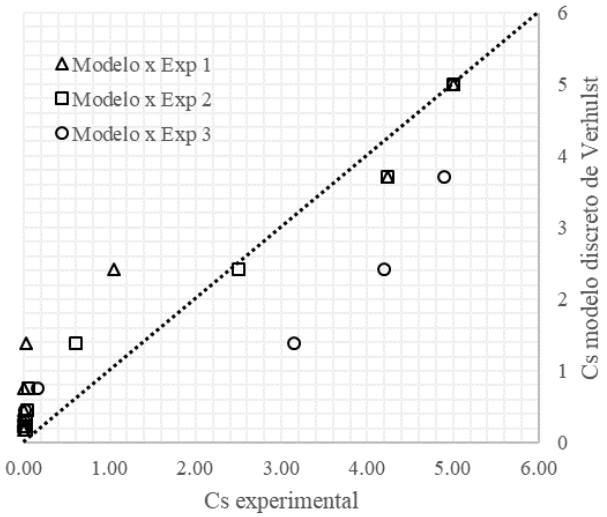
Por fim, as Figuras 30 e 31 trazem os gráficos de dispersão do modelo não linear discreto de Verhulst aos pontos dos experimentos 1, 2 e 3. Podemos observar que a precisão é semelhante à do modelo contínuo não linear.

Figura 30: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.



Fonte: Elaborado pelo autor.

Figura 31: Comparação dos pontos do crescimento celular do modelo discreto não linear de Verhulst com os pontos dos experimentos 1, 2 e 3.



Fonte: Elaborado pelo autor.

6. Conclusões

Podemos concluir que os modelo lineares, montados através da aplicação das Transformadas Z e Laplace, podem ser aplicados aos bioprocessos apresentando resultados satisfatórios para até 2 h de fermentação, isto significa que, no mínimo temos mais uma ferramenta para modelagem, mais do que isso descobrimos através deste trabalho mais uma aplicação para as Transformadas Z e de Laplace. Outro ponto relevante deste trabalho foi que os modelos em tempo discreto apresentam precisão semelhante à dos modelos em tempo contínuo, isso traz à tona uma questão: se estes modelos são conceitualmente mais adequados aos processos de crescimento populacional, por que a maioria dos autores trabalham com os modelos em tempo contínuo? Acredita-se que isto se deve ao fato do conhecimento de modelos discreto não ser muito difundido na área, este trabalho vem a acrescentar a bibliografia a possibilidade de uso de tais modelos, dando uma nova opção aos pesquisadores.

Este trabalho mostrou que o modelo mais adequado a simulação do bioprocesso de fermentação da levedura *Saccharomyces cerevisiae* em biorreator *Airlift* foi Verhulst, com erro médio de 4,74% para o crescimento celular e 13,9% para o consumo de substrato. Em segundo lugar vem o modelo de Monod, com erro médio de 9% para o crescimento celular e 7% para o consumo de substrato, até 2 h de fermentação. Descobriu-se também que o modelo de Andrews não é adequado a simulação deste bioprocesso, uma vez que não foi observada inibição do crescimento celular pelo substrato. No trabalho de (COSTA, 2016) sobre modelagem do processo de produção de Goma xantana, foi concluído também que o modelo que melhor representou o processo foi o modelo de Verhulst. Além disto, conseguiu-se estimar os seguintes parâmetros para o processo coeficiente máximo de crescimento celular 0,81 h^{-1} e o coeficiente de conversão de substrato em células 0,35 g_{cel}/g_{sac}.

Revisão Bibliográfica

AGUIRRE, L. A. Introdução a identificação de sistemas: Técnicas lineares de não lineares. 4º. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2015. 59 a 64 p.

ARTUZI JR., W. A.; CRUZ, R. R. W. www.eletr.ufpr.br. Universidade Federal do Paraná, 2010. Disponivel em: <http://www.eletr.ufpr.br/artuzi/te043/capitulo6.pdf>. Acesso em: 11 novembro 2017.

BADINO JUNIOR, A. C. et al. Biorreatores pneumáticos: simples e eficientes. Revista Brasileira de Engenharia Química, São Paulo, p. 24 a 33, 1º Quadrimestre 2016.

BERRY D. R., BROWN C. Physiology of yeast growth. In: BERRY D. R., RUSSEL I., STEWART G. G. Yeast Biotechnology. Springer, Dordrecht, 1987.

BREJNING, J., JESPERSEN, L. Protein expression during lag phase and growth initiation in Saccharomyces cerevisiae. International Journal of Food Microbiology, p. 27 a 38, 2002.

CATHERINE, S. Moving to a Fully Continuous Bioprocess. Life Science, Disponível em: < https://www.biocompare.com/Editorial-Articles/341104-Moving-Toward-a-Fully-Continuous-Bioprocess/>, 2017.

CERRI, M. O. Hidrodinâmica e transferência de oxigênio em três biorreatores airlift de circulação interna geometricamente semelhantes. UFSCAR. São Carlos, p. 6 a 8. 2009.

CERRI, M. O. et al. Comparing the performance of conventional and airlift bioreactor during the Saccharomyces cerevisiae cultivations. Congress paper CHISA, Prague, 2014.

CHISTI, Y.; MOO-YOUNG, M. Gas hold up in pneumatic reactors. Chem. Eng. Jr., 38,149,152. 1988.

CINAR, A., PARULEKAR, S. J., UNDEY C., BIROL, G. Batch Fermentation: Modeling: Monitoring, and Control. Chicago: Marcel Dekker Inc., p. 4 a 5, 2003.

COSTA, B. L. V., BASSO, T. O., RAGHAVENDRAN, V., GOMBERT, A. K. Anaerobiosis revisited: growth of Saccharomyces cerevisiae under extremely low oxygen availability. Applied Microbiology and Biotechnology, p. 2101 a 2116, 2018.

COSTA, M. R. M. F. Aplicação da metodologia de superfície de resposta, modelos cinéticos e transformada Z na produção de biopolímeros a partir de substratos alternativos. PPGEQ - UFSJ. Ouro Branco, p. 121. 2016.

CROUGHAN, M. S., KONSTANTINOV, K. B., CHARLES, C. The future of industrial bioprocessing: Batch or continuous? Biotechnology and Bioengineering, p. 648 a 651, 2015.

CUNHA, V.; MACHADO, T. Modelação e controlo de sistemas dinâmicos: transformada dos Z e sistemas de tempo discreto. Instituto Superior de Engenharia do Porto. Porto, p. 1 – 17, 2002.

FINLAYSON, B. A. Introduction to chemical engineering computing. Wiley_Interscience. ed. New Jersey: John Wiley & Sons, 2006.

GUPTA, V. K. New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering. Handbook of Industrial Chemistry: Aspergillus System Properties and Applications, Elsivier, Amsterdam, p. 241-254, 2016.

HALL, R. W. Discrete models/continuous models. Omega, p. 213 a 220, 1986.

HODA, S. et al. Optimal growth of Saccharomyces Cerevisae (PTCC24860) on pretreated molasses for the etanol production: the application of the response surface muthodology. Scientific Paper CI&CEQ, p. 199 a 206, 2010.

HUMBIRD, D., DAVIS, R., MCWILLIAN, J. D. Aeration costs in stirred-tank and bubble column bioreactors. Biochemical Engineering Journal, p. 161 a 166, 2017.

IME UERJ. Instituto de Matemática e Estatística da UERJ. Site do IME da UERJ, 2014. Disponivel em: <http://www.ime.uerj.br/~calculo/LivroIV/laplace.pdf>. Acesso em: 13 junho 2017.

JACOB, B., ZWART, H. J. Linear Port-Hamiltonian Systems on Infinite-dimensional Spaces, Springer Basel, vol. 223, p. 14 a 15, 2012.

JESUS, S. S., NETO, J. M., MACIEL, R. Hydrodynamics and mass transfer in bubble column, conventional airlift, stirred airlift and stirred tank bioreactors, using viscous fluid: A comparative study. Biochemical Engineering Journal, p. 70 a 81, 2017.

JI, M.; MIAO, Y., CHEN, J. U., YOU, Y., LIU, F., XU, L. Growth characteristics of freeze-tolerant baker's yeast Saccharomyces cerevisiae AFY in aerobic batch culture. Springerplus, p. 1 a 13, 2016.

KENT, J. A. Industrial Fermentation: Principles, Processes, and Products. Handbook of Industrial Chemistry, Springer, Boston MA, p. 916-986, 1992.

LAMOTTE, A., DELAFOSSE, A., CALVO, S., DELVIGNE, F., TOYE, D. Investigating the effects of hydrodynamics and mixing on mass transfer through the free-surface in stirred tank bioreactors. Chemical Engineering Science, p. 125 a 142, 2017.

LIM, H. C., SHIM, H. S. Fed-Batch Cultures: Principles and Applications of Semi-Batch Bioreactors. Cambridge: Cambridge University Press., p. 1 a 4, 2013.

LI, P., FU, X., ZHANG, L., ZHANG, Z., LI, J., LI, S. The transcription factors Hsf1 and Msn2 of thermotolerant Kluyveromyces marxianus promote cell growth and ethanol fermentation of Saccharomyces cerevisiae at high temperatures. Biotechnol Biofuels, p. 13, 2017.

LOPES, J. J. C. Centro de Ciências Agrárias UFSCar. UFSCar, 2017. Disponivel em: <www.cca.ufscar/~vico/2%20monitoramento/3%20LEVEDURAS.pdf>. Acesso em: 06 Junho 2017.

LU, Y., VOON, M. K. W., HUANG, D., LEE, P., LIU, S. Combined effects of fermentation temperature and pH on kinetic changes of chemical constituents of durian wine fermented with Saccharomyces cerevisiae. Appl Microbiol Biotechnol, p. 3005 a 3014, 2017.

MARQUES, R. F. Controle de processo em batelada: aplicação ao sistema de mistura veramix. UFOP. Ouro Preto, p. 12 a 13. 2009.

MARIN, I. K. O., PEREZ, L. A. M., GARCIA, M. C., ALMENDÁREZ, B. E. G., HERNÁNDEZ, J. C. G., GONZALEZ, C. R. Interactions between carbon and nitrogen sources depend on RIM15 and determine fermentative or respiratory growth in Saccharomyces cerevisiae. Springer-Verlag GmbH, p. 4535 a 4548, 2018.

MCWILLIAMS, A. Yeasts, yeasts extracts, autolysates and realated products: the global market. BCC Research, Massachusetts, p. 1 a 9, Agosto 2017.

MIOTO, M., GOUVEIA, R., ABIDIN, F. Z., FIGUEIREDO, F., CONNON, C. J. Developing a Continuous Bioprocessing Approach to Stromal Cell Manufacture. ACS Applied Materials & Interfaces, 2017.

NEVES, L. C. M. Obtenção da enzima glicose 6-fosfato desidrogenase utilizando “saccharomyces cerevisae”. USP. São Paulo. 2003.

NIDMEIJER, H., SCHUMACHER, J. M. Three Decades of Mathematical System Theory. Lecture Notes in Control and Information Sciences. Vol 135. Berlin: Springer., p. 382 a 407, 1989.

OLIVEIRA, A. R. M. Aplicação de delineamentos fatoriais e metodologia da superfície de resposta para otimização de meio de cultura. UFSJ. Ouro Branco. 2013.

RYAN, J., HEAVEY, C. Process modeling for simulation. Computers in Industry, p. 437 a 450, 2006.

SANTOS, J. Transformadas de Laplace. In: SANTOS, J. Modelos dinâmicos. Santo André: FSA, p. 6 a 19, 2005.

SCHIMIDELL, W. et al. Biotecnologia industrial. São Paulo: Edgard Blucher Ltda., v. II, 1983.

SCHNEITER, R. Genetics, Molecular and Cell Biology of Yeast. Fribourg: Universite de Fribourg, p. 4-6, 2004.

SILVA, R. G. Operações unitárias: transporte de fluidos. São Carlos: UFSCar, 2008.

STEENSELS, J.; SNOEK, T.; MEERSMAN, E.; NICOLINO, M. P.; VOODECKERS, K.; TAMILARASAN, K.; DHARMENDIRA KUMAR, M. Kinetic modeling and analysis of kinetic parameters for solvent-tolerant lipase from bacillus sphaericus MTCC 7542. Research Journal of Microbiology, v. 71, p. 1-9, 2011.

TUITE, M. F., OLIVER S. G. Saccharomyces. Biotechnology Handbooks, vol 4. Springer, Boston, p. 249-282, 1991.

VERSTREPEN, K. Improving industrial yeast strains: exploiting natural and artificial diversity. Fems Microbiol Rev, p. 947 a 995, Setembro 2014.

WILLAERT, R. G. Fermentation. Yeast Biotechnology, p. 1 a 3, Janeiro 2017.

FELDMANN, H. Yeast: Molecular and Cell Biology. Wheinhein: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co, p. 5-24, 2012.